



TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI
Fakulta textilní



VÝVOJ NANO-VLÁKENNÉ MEMBRÁNY NA BÁZI POLYMERNÍCH HYDROGELŮ

Diplomová práce

Studijní program: N3108 – Průmyslový management
Studijní obor: 3106T014 – Produktový management - Textil
Autor práce: **Bc. Jana Ronová**
Vedoucí práce: Ing. Daniela Lubasová, Ph.D.





TECHNICAL UNIVERSITY OF LIBEREC
Faculty of Textile Engineering



DEVELOPMENT OF NANO-FIBER MEMBRANE ON BASED OF POLYMER HYDROGELS

Diploma thesis

Study programme: N3108 – Industrial Management
Study branch: 3106T014 – Product Management - Textile
Author: **Bc. Jana Ronová**
Supervisor: Ing. Daniela Lubasová, Ph.D.



Tento list nahrad'te
originálem zadání.

Prohlášení

Byla jsem seznámena s tím, že na mou diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci (TUL) nezasahuje do mých autorských práv užitím mé diplomové práce pro vnitřní potřebu TUL.

Užiji-li diplomovou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědoma povinnosti informovat o této skutečnosti TUL; v tomto případě má TUL právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Diplomovou práci jsem vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé diplomové práce a konzultantem.

Současně čestně prohlašuji, že tištěná verze práce se shoduje s elektronickou verzí, vloženou do IS STAG.

Datum:

Podpis:

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucí mé diplomové práce Ing. Daniele Lubasové, Ph.D. za rady a připomínky, které měla k mé práci. Ale hlavně chci poděkovat za čas, který mi věnovala. Také děkuji mým rodičům, kteří mě po celou dobu studia podporovali a vždy ve mně věřili. V neposlední řadě patří velké díky L. Š a L. Č.

ANOTACE:

Cílem této práce bylo vyrobit hydrogelovou membránu na bázi nanovláken. Nejprve bylo nutné nalézt vhodnou kombinaci dvou polymerních roztoků optimálních pro elektrostatické zvlákňování. Dalším důležitým bodem bylo zjistit optimální podmínky při průběhu elektrostatického zvlákňování. Hydrogelové nanovláknenné membrány byly následně tepelně sít'ovány tak, aby byly nerozpustné a zároveň dosahovaly vysoký stupeň bobtnání ve vodě. Morfologie membrán a jejich chemická podstata byla analyzována pomocí metody SEM a FTIR. Závěrem byl zjišťován stupeň bobtnání a rozpustnosti membrán ve vodě.

KLÍČOVÁ SLOVA:

Nanovlákná, membrány, hydrogely, elektrostatické zvlákňování

ANNOTATION:

Aim this work was produce hydrogel membrane based on nano-fibers. First of all was necessary to find suitable combination of two polymers solutions for electrospinning. Other very important point was found out optimal conditions for electrospinning. Then hydrogel membranes based on nanofibers were crosslinked by heat treatment to become insoluble and simultaneously achieving a high degree of swelling in water. Morphology of membranes and their chemical structure were analyzed by SEM and FTIR methods. At the end the degree of swelling and membrane's solubility in water were examined.

KEY WORDS:

Nanofibers, membranes, hydrogels, electro spinning

OBSAH:

| | |
|---|-----------|
| ÚVOD..... | 11 |
| 1. Hydrogely | 13 |
| 1.1 Vlastnosti hydrogelů..... | 13 |
| 1. 2 Zesíťování hydrogelů..... | 14 |
| 1. 2. 1 Chemické zesíťování..... | 15 |
| 1. 2. 2 Fyzické zesíťování | 15 |
| 1.3 Charakterizace hydrogelů | 16 |
| 1. 3. 1 Rozpustnost ve vodě..... | 16 |
| 1. 3. 2 Bobtnání..... | 17 |
| 1. 3. 3 SEM | 18 |
| 1. 3. 4 FTIR..... | 19 |
| 2. Nanovlákná..... | 20 |
| 3. Elektrostatické zvlákňování..... | 21 |
| 3. 1 Materiály vhodné pro elektrostatické zvlákňování..... | 21 |
| 3. 2 Princip elektrostatického zvlákňování..... | 21 |
| 3. 3 Faktory ovlivňující elektrostatické zvlákňování..... | 22 |
| 3. 4 Perličkový efekt | 23 |
| 3. 5 Technologie Nanospider™ | 24 |
| 4. Poslední trendy ve vývoji hydrogelových nanovláknenných membránách..... | 25 |
| 5. Příklady použití nanovláknenných membrán | 31 |
| 5. 1 Obvazové materiály | 31 |
| 5. 2 Systém řízeného dávkování léčiv | 32 |
| 5. 3 Scaffolds..... | 32 |
| 6. Experiment | 33 |
| 6. 1 Použité chemikálie..... | 35 |
| 6. 1. 1 PVP | 35 |
| 6. 1. 2 Chitosan | 36 |
| 6. 1. 3 PAA | 36 |
| 6. 1. 4 Triton X-100 | 37 |
| 6. 1. 5 Chlorid sodný | 37 |
| 6. 1. 6 Použitá rozpouštědla..... | 38 |
| 6. 2 Použitá zařízení..... | 40 |

| | |
|--|---------------|
| 6. 3 Použité testovací metody | 41 |
| 6. 4 Elektrostatické zvlákňování – výroba nanovláknenných membrán | 42 |
| 6. 4. 1 Polymerní směs PVP/PAA | 42 |
| 6. 4. 2 Polymerní směs PVP/chitosan | 50 |
| 6. 4. 3 Polymerní roztok PVP | 55 |
| 6. 4. 4 Výroba polymerních filmů | 55 |
| 6. 5 Zesíťování hydrogelových membrán a filmů | 57 |
| 7. Testování hydrogelových membrán | 58 |
| 7. 1 Tepelná odolnost a morfologie hydrogelových membrán po styku s vodou .. | 58 |
| 7. 2 Stupeň rozpouštění | 60 |
| 7. 3 Stupeň bobtnání | 62 |
| 7. 4 FTIR analýza hydrogelových membrán | 65 |
| Závěr | 68 |
| Použitá literatura | 70 |
| Přílohy | 74 |

SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ

| | |
|-----------|--|
| EWC [%] | množství absorbované vody |
| W_w [g] | hmotnost vody v hydrogelu |
| W_t [g] | celková hmotnost hydratovaného gelu |
| W_i [g] | počáteční hmotnost suchého vzorku |
| W_d [g] | hmotnost suché nerozpustné části vzorku po extrakci vodou |
| S [g] | hydratovaná disperze |
| W_2 [g] | konstantní hmotnost filtru s disperzí hydrogelu |
| W_1 [g] | hmotnost změřená po sušení a chlazení vzorku |
| W_s [g] | hmotnost hydrogelu v mokřém stavu |
| W_d [g] | hmotnost hydrogelu v suchém stavu |
| C [g] | hmotnost hydrogelu získaného po vysušení |
| B [g] | hmotnost nerozpustného podílu hydrogelu po vyloučení podílu vody |

| | |
|----------|---|
| SEM | Skenovací elektronový mikroskop |
| FTIR | Fourierova transformační infračervená spektroskopie |
| PVP | Polyvinylpyrrolidon |
| PAA | Kyselina polyakrylová |
| ETOH | Ethanol |
| DMF | Dimethylformamid |
| $FeSO_4$ | Síran železnatý |
| BSA | Hovězí sérový albumin |
| NaOH | Hydroxid sodný |
| ISOP | Isopren |
| DMSO | Dimethylsulfoxid |
| NaCl | Chlorid sodný |
| AC | Acetát |
| THF | Tetrahydrofuran |
| EA | Ethylacetát |
| PEG | Polyethylen -glykol |
| HPMC | Hydroxypropyl methyl celulóza |
| PVA | Polyvinylalkohol |

| | |
|------|--------------------------------|
| HPMC | Hydroxypropyl methyl celulóza |
| PVA | Polyvinylalkohol |
| BTCA | Kyselina butantetrakarboxylová |

Úvod

Biologické a biodegradabilní polymery se v současnosti dostávají do popředí zájmu. Využívají se zejména v medicínském průmyslu jako nosiče léčiv, implantační materiály a podobně. Proto vznikl nový obor biomedicína, který využívá spojení biologických materiálů a technologických principů. Jiná definice uvádí, že biomedicína je aplikace inženýrských principů na živé organismy. Vize do budoucna je taková, že se pomocí biotechnologií podaří vyrobit nové léky, které zpomalí či nejlépe úplně zastaví civilizační nemoci, jako jsou cukrovka, rakovina či Parkinsonova choroba, anebo bude zcela běžné vypěstovat a implantovat do těla pacienta nové orgány z jeho vlastních buněk. Pozornost je často zaměřena na hydrogely a hydrogelové materiály a to z důvodu jejich vlastností, jako jsou: vysoká bobtnavost, propustnost pro plyny a biodegradabilita. Bohužel v dnešní době jsou hydrogely zpracovány převážně do formy filmů nebo fólií, které nejsou pro mnohé aplikace žádoucí. Zpracování hydrogelových polymerů jako nanovláknenné membrány by v tomto slova smyslu mohlo být více než žádoucí kvůli vlastnostem jako vysoký měrný povrch a prodyšnost, dále snadná manipulovatelnost a schopnost tvořit kompozit s různým druhem substrátu. Kombinací hydrogelových polymerů a nanovláken by mohl vzniknout nový materiál, který by byl vhodnější například pro krytí nebo hojení ran, kde vyšší prodyšnost a bobtnavost jsou vysoce žádoucí.

Tato diplomová práce je zaměřena na hydrogelové membrány, které by se v mohli využívat při výrobě scaffoldů, obvazových materiálů nebo k řízenému transportu léčiv. Pro experiment popsáný v této diplomové práci byly vybrány polymery polyvinylpyrrolidon (PVP) a kyselina polyakrylová (PAA), o kterých je známo, že jsou biologické, biodegradabilní, netoxické, a proto se lépe hodí pro biomedicínu. Při výrobě hydrogelových membrán byla zvolena technika elektrostatického zvlákňování směsí PVP/PAA, avšak výsledky byly neuspokojivé, proto bylo třeba nalézt vhodnější polymerní směs. Jako další polymer k PVP byl vybrán chitosan, který se jeví jako perspektivní polymer se širokým spektrem použití a pro své vynikající biologické vlastnosti se často aplikuje v biomedicině. K rozpouštění obou těchto typů polymerů bylo zkoušeno více rozpouštědel, avšak jako nejvhodnější se osvědčila kyselina citrónová. Rozpuštěné polymery byly smíchány v určitých poměrech a za účelem intenzivnějšího elektrostatického zvlákňování byly do polymerních roztoků přidány chlorid sodný (NaCl) a Triton X-100. Tyto připravené směsi byly zvlákňovány na přístroji Nanospider se strunovou statickou elektrodou.

Nanovláknenné hydrogelové membrány byly následně termicky zesíťované v cirkulační horkovzdušné troubě na teploty 100°C, 120°C, 140°C a 180°C. Pro účely porovnávání nanovláknenných membrán s jinou formou hydrogelu byly odlity a zesíťovány filmy ze stejných polymerních směsí. Vzorky byly dále zkoumány pomocí metody SEM a FTIR a byl zjišťován stupeň bobtnání a stupeň rozpouštění vzorků po kontaktu s vodou. Cílem těchto měření bylo určit, jaké faktory ovlivňují kvalitu nanovláknenných hydrogelových membrán, stupeň jejich bobtnání a rozpouštění. Také byly zjišťovány odlišnosti v charakteristikách mezi nanovláknennými membránami a filmy. V experimentu byl také porovnáván rozdíl mezi membránami vyrobenými z čistého PVP a ze směsi PVP/chitosan.

I. Teoretická část

1. Hydrogely

Termín hydrogel popisuje zesíťovaný systém, vyrobený z přírodních či syntetických hydrofilních polymerů, který je charakteristický schopností absorbovat a udržet velké množství kapalin, aniž by se sám rozpustil. Dá se také říci, že hydrogel je permanentní nebo chemický gel stabilizovaný pomocí kovalentních vazeb. Zesíťování vhodného polymeru vede k výrobě hladkého, pružného a vysoce elastického hydrogelu. Pomocí chemikálií se mohou měnit mechanické a povrchové vlastnosti hydrogelu, polarita či schopnost absorbovat kapaliny. Dají se také vyrobit hydrogely, které jsou citlivé na různé podmínky jako pH, teplota anebo přítomnost elektrolytů, kdy při daném podmětu hydrogely vykazují změnu v prostředí zvětšením svého objemu neboli bobtnáním. Takovým hydrogelům se říká hydrogely citlivé na stimuly či citlivé na prostředí [1, 2].

Hydrogel se používá v mnoha odvětvích jako například v potravinářském či lékařském průmyslu, kdy asi nejznámějším zástupcem hydrogelů produktů jsou kontaktní čočky [1, 2].

1.1 Vlastnosti hydrogelů

Mezi nejvýznamnější vlastnosti hydrogelů patří již zmiňovaná schopnost absorbovat vodu, ale také i propustnost a **biokompatibilita**. Vlastnosti hydrogelů závisí především na povaze polymeru a na stupni zesíťování. Obecně se dá říci, že jsou hydrogely v suchém stavu křehké a tvrdé, ale při styku s kapalinou zvětšují svůj objem, bobtnají, a stávají se měkčími. Stupeň bobtnání je dán hydrofilitou polymeru. Velkou výhodou hydrogelů je, že mohou mít obsah vody menší než jedno procento, ale na druhou stranu také vyšší než 99%. Množství absorbované vody je určeno rovnicí equilibrium water content (EWC), viz rovnice č. 1, kde w_w znamená hmotnost vody v hydrogelu, w_t vyjadřuje celkovou hmotnost hydratovaného gelu [1].

$$EWC = \frac{w_w}{w_t} \times 100 [\%] \quad (1)$$

Princip **zadržování kapalin** je takový, že při kontaktu hydrogelu s kapalinou prvně reagují polární hydrofilní skupiny, jedná se takzvaně o primárně vázanou vodu. Následně hydrogel nabobtná a zpřístupní pro kapalinu také i hydrofobní složky, které jsou také schopné vázat kapalinu. Toto vede ke spojení kapaliny s hydrofobními

skupinami a tato kapalina poté nese jméno sekundárně vázaná voda. Primárně a sekundárně vázaná voda dohromady se nazývá celkově vázaná voda. Hydrogel je ovšem schopen adsorbovat další množství kapaliny a to kvůli osmotické síle. Toto spojení způsobí dodatečné bobtnání, které vede k elastické a vratné síti. Tato dodatečně absorbovaná kapalina pojmenovaná volná voda zaplňuje prostor mezi dutinami, většími póry a mezerami mezi řetězci. Kolik je hydrogel schopen pojmout vody záleží na teplotě a na interakci mezi molekulami vody a polymerními řetězci. Poté, kdy hydrogel absorbuje všechnu možnou kapalinu, co je schopen absorbovat, se rozpadne nebo rozpustí. Typ rozkladu záleží na druhu použitého materiálu. Biodegradabilní hydrogely obsahují labilní vazby, které mohou být buď v řetězci polymeru anebo byly přítomny při zesíťování polymeru. Odstranění labilních vazeb se nejčastěji provádí hydrolýzou, avšak je možno je zrušit chemicky nebo enzymaticky [2, 3].

Propustnost pro plyny lze obecně charakterizovat jako schopnost materiálu propouštět kyslík. Je to důležitý parametr hlavně při nošení kontaktních čoček nebo při hojení ran, protože propustnost pro plyny je přímo zodpovědná za okysličování rohovky nebo hojící se rány [2, 3].

Biokompatibilita je důležitá vlastnost při degradačním procesu. V dnešní době jsou kladeny také velké požadavky na netoxičnost hydrogelu. V ideálním případě by byl hydrogel netoxický, zdraví neškodný anebo by škodlivé látky měly být vyloučeny při degradačním procesu. Obecně se dá říci, že hydrogely mají dobrou biokompatibilitu [2].

1. 2 Zesíťování hydrogelů

Z důvodu chemické podstaty hydrogelů je většina z nich rozpustná ve vodě. Právě díky zesíťování se hydrogely při kontaktu s kapalinou stávají nerozpustnými. Zesíťování hydrogelů má několik fází. Nejdříve, aby se zahájilo zesíťování, je třeba do reakce dodat polymer a činidlo s nízkou molekulovou hmotností a poté dochází ke spojování makromolekul, které zprvu tvoří velmi rozvětvené, ale zatím rozpustné polymery. Těmto polymerům se říká sol. Do jaké míry jsou polymery rozvětvené a rozpustné, záleží na struktuře a vlastnostech vstupního materiálu. Další fází je zvětšování velikosti polymerní sítě a zároveň snižování rozpustnosti polymeru. Tento "nekonečný polymer" se nazývá gel nebo síť. Proměna z rozvětveného "nekonečného" polymeru do nerozvětveného "konečného" polymeru se jmenuje "sol-gel-přechod" anebo také

zpevňování neboli zesítování. Okamžik, kdy se ve směsi poprvé objeví známky gelu, je pojmenován "bod gelace" [1].

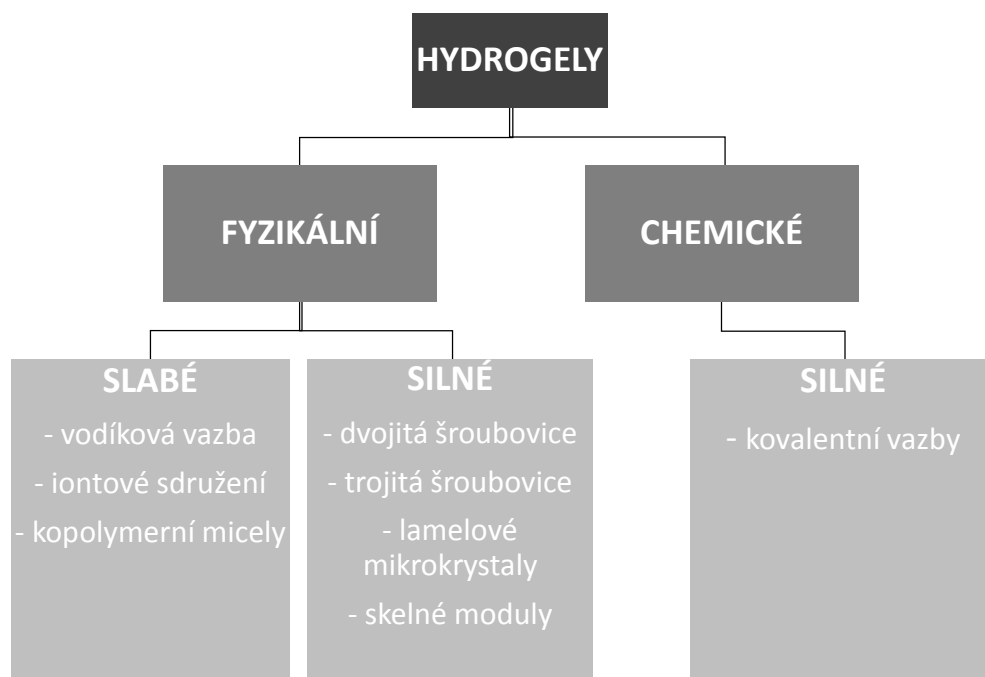
Jsou známy dvě varianty zesítování: chemické anebo fyzikální. Výsledkem chemického zpevňování jsou vždy silné hydrogely, zatímco výsledkem fyzikálního zpevňování vznikají jak silné, tak i slabé gely. V tab. 1 je uvedena klasifikace hydrogelů i s názornými příklady zesítování [1].

1. 2. 1 Chemické síťování

Chemicky zesítované gely neboli permanentní gely jsou charakteristické díky kovalentnímu zesítování. U nich jsou vodíkové vazby nahrazeny stabilnějšími a silnějšími kovalentními vazbami. Příkladem kovalentních vazeb je kinetická síla mezi polymery [1].

1. 2. 2 Fyzikální síťování

Fyzicky zesítované gely se někdy také nazývají vratné gely, a to kvůli působení molekulárních vazeb, protože právě pro fyzické gely je charakteristické spojování pomocí sekundárních sil, které jsou vratné a za určitých fyzikálních podmínek nebo při namáhání materiálu je lze zničit. Jak již bylo řečeno, fyzické gely mohou být dále rozděleny na silné fyzické gely a slabé fyzické gely. Silné fyzické gely mají mezi polymerními řetězci silné fyzické vazby a při určitých podmínkách jsou tyto vazby trvalé. Jako příklad mohou posloužit dvojité anebo trojitě šroubovice či skelné moduly. Zatímco u slabých fyzických gelů vznikají pouze dočasné vazby, které mají určitou životnost. Pro ilustraci můžeme uvést vodíkové či iontové vazby [1].



Tab. 1 – Rozdělení hydrogelů [1]

1. 3 Charakterizace hydrogelů

Hydrogely lze popsat dle několika základních charakteristik. Jedná se o rozpustnost hydrogelů ve vodě, bobtnání, skenovací elektronovou mikroskopii (SEM) a Fourierovu transformační infračervenou spektroskopii (FTIR). Všechny tyto metody jsou blíže popsány níže.

1. 3. 1 Rozpustnost ve vodě

Rozpustnost hydrogelů ve vodě lze změřit dvěma základními metodami, které jsou popsány v následující kapitole.

Metoda A

Princip tohoto měření spočívá v ponoření vzorku hydrogelu do vody na 16 hodin v případě deionizované vody nebo na 48 hodin, pokud měříme při pokojové teplotě. Materiál by měl být zcela rozptýlen ve vodě. Po vymoření a vysušení vzorku z vody se zjišťuje množství nerozpuštěné části hydrogelu pomocí rovnice 2, kde W_i je počáteční hmotnost suchého vzorku a W_d je hmotnost suché nerozpustné části vzorku po extrakci vodou. Výsledkem je procentuální podíl hydrogelu [2].

$$\text{Frakce gelu (\% hydrogelu)} = \left(\frac{W_d}{W_i} \right) * 100 \quad (2)$$

Metoda B

Druhá metoda je přesnější než první, která byla zmíněná v kapitole 1.3.1. Podíl nerozpustné frakce hydrogelu se stanovuje pomocí vakuové filtrace. Nerozpustný podíl hydrogelu, udávaný v g/g, je vyjádřen rovnicí 3. Nejprve se zváží filtr ze skleněných vláken o tloušťce 70 mm s velikostí pórů 1,2 mikrometrů, který byl předem vysušen při teplotě 105°C po dobu 60 minut a poté chlazen v exsikátoru s obsahem silikagelu. Tato váha představuje hodnotu w_1 . Následně v závislosti na testovaném hydrogelu se v destilované vodě připraví 1-2 hm%-ní disperze, která bude přes noc hydratována (S). Hydratovanou dispersi je třeba odstředit po dobu 2 – 5 min při 2 500 otáčkách za minutu a následně přefiltrovat pomocí filtru ze skleněných vláken. Poslední operací je sušení filtračního papíru v sušárně při teplotě 105°C a následné chlazení. W_2 je konstantní hmotnost filtru s disperzí hydrogelu, W_1 je hmotnost změřená po sušení a chlazení vzorku [2].

$$\text{Frakce gelu (g/g)} = \left(\frac{W_2 - W_1}{S} \right) \quad (3)$$

1. 3. 2 Bobtnání

Jak již bylo popsáno v kapitole 1. 2., hydrogel při kontaktu s kapalinou absorbuje vodu a následně zvětšuje svůj objem, neboli bobtná. V této kapitole bude popsáno několik variant, jak lze měřit bobtnání hydrogelu.

Metoda A

Tento postup na měření bobtnání vychází z Japonské normy. Podle něho je suchý hydrogel ponořen do destilované vody a ponechán tam po dobu 48 hodin. Po nabobtnání je hydrogel přefiltrován přes nerezovou síťku. Rovnicí 4 lze vypočítat bobtnání hydrogelu pomocí veličiny W_s , která udává hmotnost hydrogelu v mokřém stavu, a W_d hmotnost hydrogelu v suchém stavu [2].

$$\text{Bobtnání} = \frac{W_s - W_d}{W_d} [\text{g/g}] \quad (4)$$

Metoda B

Suchý hydrogel je rozptýlen v dostatečném množství vody po dobu 48 hodin při pokojové teplotě. Tato směs se poté odstředí, aby se získala voda vázaná k materiálu a volná neabsorbovaná voda. Neabsorbovaná voda se odstraní a bobtnání lze vypočítat opět pomocí rovnice 4 [2].

Metoda C

Při této metodě je suchý gel ponořen do deionizované vody po dobu 16-ti hodin při pokojové teplotě. Po bobtnání je hydrogel přefiltrován přes ocelovou síťku a bobtnání je změřeno podle rovnice 5, kde C určuje hmotnost hydrogelu získaného po vysušení a B je hmotnost nerozpustného podílu po vyloučení podílu vody [2].

$$\text{Bobtnání} = \frac{C}{B} * 100 [\%] \quad (5)$$

1. 3. 3 SEM

SEM je určeno k pozorování povrchu vzorků, kompozice či elektrické vodivosti hydrogelů. Český název pro tento přístroj je rastrovací elektronový mikroskop. Slovo rastrovací se užívá proto, že se mikroskop pohybuje v neviditelném rastru a skenuje materiál řádek po řádku. Postupným znázorňováním se poskládá výsledný obraz s vysokou hloubkou ostrosti a zobrazí povrch i částice až s 500-ti tisícinásobným zvětšením [4].

Svazek elektronů neboli elektronový paprsek, který je urychlený v elektrickém poli, se nejčastěji vyrábí z wolframového vlákna a je zaostřen na povrch vzorku, kde následně pronikají elektrony pod povrch. Při dopadu elektronů je část absorbována, část odrazena a také dochází ke vzniku sekundárních elektronů. Právě odražené paprsky se převádí na viditelný obraz [4, 5].

Správně připravené vzorky pro SEM by měly být [4, 5]:

- tenké, aby nepohlcovaly elektrony
- suché, bez nečistot, prachu a dalších povrchových částic
- potažené tenkou kovovou vrstvou s dobrou elektrickou a tepelnou vodivostí
- umístěné ve vakuové komoře

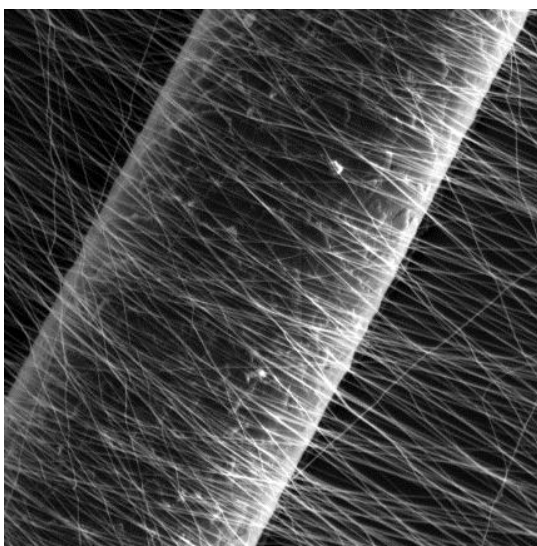
1. 3. 4 FTIR

FTIR analýza využívá infračerveného záření na zjišťování chemické struktury vzorku. Infračervené záření je elektromagnetické záření v rozsahu vlnových délek 0.78 – 1000 μm . Metoda je založena na předpokladu, že základní složky chemické látky mohou absorbovat infračervené záření na odlišných světelných frekvencích. Měří se úroveň pohlcení infračerveného záření o různých vlnových délkách. Tento postup vyžaduje matematickou metodu Fourierovy transformace, abychom získali výsledné spektrum [2].

2. Nanovláknna

Počátky nanovláken se datují na konci 19. století. Vznikla náhodně při pokusech s elektrostatickým zvlákňováním, jejich význam ale výrazně vzrostl až na počátku 20. století se zavedením výroby syntetických polymerních vláken. Definice nanovláken se u jednotlivých autorů liší, ale nejjednodušší je ta, která uvádí, že to jsou vlákna, jejichž průměr se pohybuje v rozsahu nanometrů (10^{-9} m). Lze je porovnat s lidským vlasem, který má průměr okolo 80 mikrometrů, což je zhruba 200x více než u nanovláken. Toto tvrzení je znázorněno na obr. 1. Mezi důležité vlastnosti nanovláken a nanovláknenných membrán se řadí velký měrný povrch, vysoká porozita, malá velikost pórů a malý průměr vlákna. Jako materiály vhodné pro výrobu nanovláken lze brát v potaz polymerní roztoky, polymerní látky, sklo, keramiku či gely. Avšak nejoptimálnější jsou polymery, protože je pro ně charakteristická soudržnost a dlouhé lineární molekuly. Hůře se zvlákňují materiály, které tvoří síťovou strukturu, jako sklo a keramika, a také materiály, jež poji velká síla. Nanovláknna se nejčastěji aplikují v kompozitech, filtrech, separačních membránách, biomedicině, kosmetice a také v tkaninách [6, 7].

Je známo několik způsobů výroby nanovláken: tažení z kapky, protlačování zvlákňovací tryskou, melt-blown (rozfukování taveniny) a elektrostatické zvlákňování. Kde poslední jmenovaná metoda je nejvíce užívaná technika pro výrobu nanovláken, proto je detailněji popsána v kap. 3 [6].



Obr. 1 – Porovnání lidského vlasu a nanovláken [8]

3. Elektrostatické zvlákňování

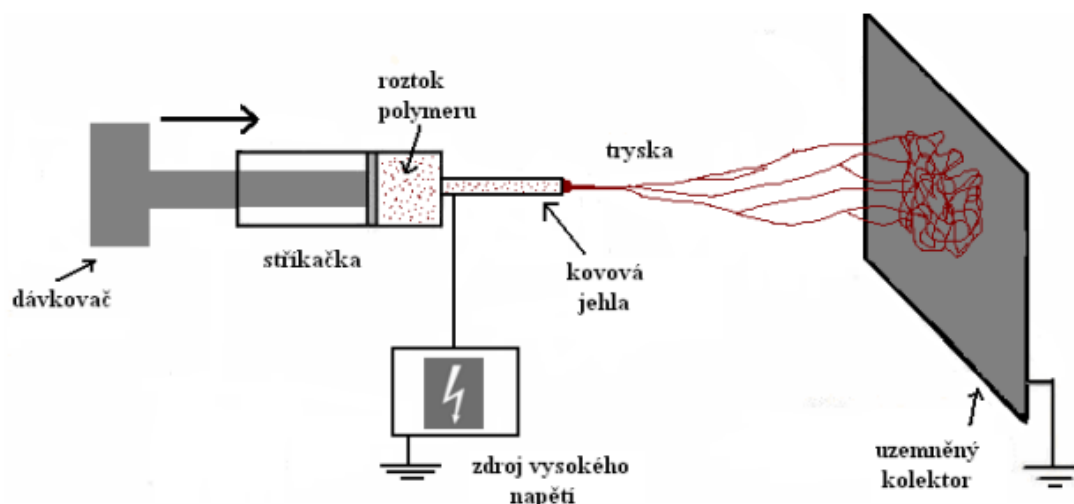
Elektrostatické zvlákňování je proces, který využívá elektrostatického napětí k výrobě vláken. V následující kapitole je popsán princip této techniky, materiály k tomu vhodné a faktory ovlivňující výrobu vláken.

3.1 Materiály vhodné pro elektrostatické zvlákňování

Pro elektrostatické zvlákňování je vhodná široká škála polymerů. Jednak konvenčně využívané polymery, jako jsou polyamidy nebo polyestery, ale také nekonvenční biopolymery jako jsou např. proteiny. V současné době lze zpracovávat více než 50 typů polymerů. Polymery se snadněji zvlákňují z roztoku, hůře z taveniny. Zvlákňování z taveniny vyžaduje vakuum a tavenina má také vyšší viskozitu oproti polymerním roztokům. Výsledkem jsou méně jemná vlákna, z tohoto důvodu jsou více favorizované polymerní roztoky. Ovšem použití roztoků při elektrostatickém zvlákňování má také své nevýhody. Abychom získali polymerní roztok, je třeba polymer nejprve rozpustit v rozpouštědle. Problém je, že ta jsou velmi často toxická a zdraví škodlivá. Proto vznikají potíže při samotném procesu zvlákňování a tím pádem jsou kladeny vyšší nároky na ochranu pracovníků při vdechování rozpouštědel. Pokud používáme ve vodě rozpustné polymery, eliminují se negativa napsaná výše, avšak je třeba po samotném zvlákňování zabránit úplnému rozpuštění nanovláknenné membrány pomocí zesítěvání popsaném v kapitole 7. 5 [7, 9].

3.2 Princip elektrostatického zvlákňování

Při elektrostatickém zvlákňování je využito vysokého napětí k vytvoření elektricky nabitého proudu polymerního roztoku nebo taveniny. Elektroda vysokého napětí je spojena přímo s polymerním roztokem a naproti tomu se nachází uzemněný kolektor. Kapka na hrotu jehly přijímá elektrické síly a začíná se prodlužovat směrem k druhé elektrodě, ke kolektoru. Tím, jak se vlákna snaží přiblížit blíže ke kolektoru, začínají se deformovat do kónického tvaru, známo také jako „Taylorův kužel“. Po překonání počátečního povrchového napětí se kapka díky velké elektrostatické síle protahuje a vzniká vlákno. Po odpaření rozpouštědla vlákna ztuhnou a vytvářejí vláknennou vrstvu na povrchu kolektoru. Princip elektrostatického zvlákňování je graficky znázorněn na obr. 2 [7, 9].



Obr. 2 – Princip elektrostatického zvlákňování [9]

3. 3 Faktory ovlivňující elektrostatické zvlákňování

Existuje mnoho faktorů, které mají vliv na kvalitu zvlákňování a výslednou jakost nanovláken. Základní prvky ovlivňující proces jsou znázorněny v tabulce 2. Je nutné tyto elementy kontrolovat, jinak může dojít ke vzniku nežádoucího jevu, kterým je perličkový efekt nebo jiné zhoršení kvality nanovlákněné vrstvy [9].

| Faktor | Příklad |
|--|---|
| Polymer | <ul style="list-style-type: none"> - typ polymeru - ne/rozpustnost - molekulová hmotnost - polymerní struktura |
| Roztok | <ul style="list-style-type: none"> - viskozita - koncentrace - vodivost - povrchové napětí |
| Tavenina | <ul style="list-style-type: none"> - teplota |
| Rozpouštědla | <ul style="list-style-type: none"> - bod varu - toxicita |
| Uspořádání zvlákňovacího zařízení | <ul style="list-style-type: none"> - průměr jehly - počet trysek |
| Provozní podmínky | <ul style="list-style-type: none"> - rychlost průtoku polymerního roztoku - elektrické napětí - vzdálenost zvlákňovací trysky od kolektoru |

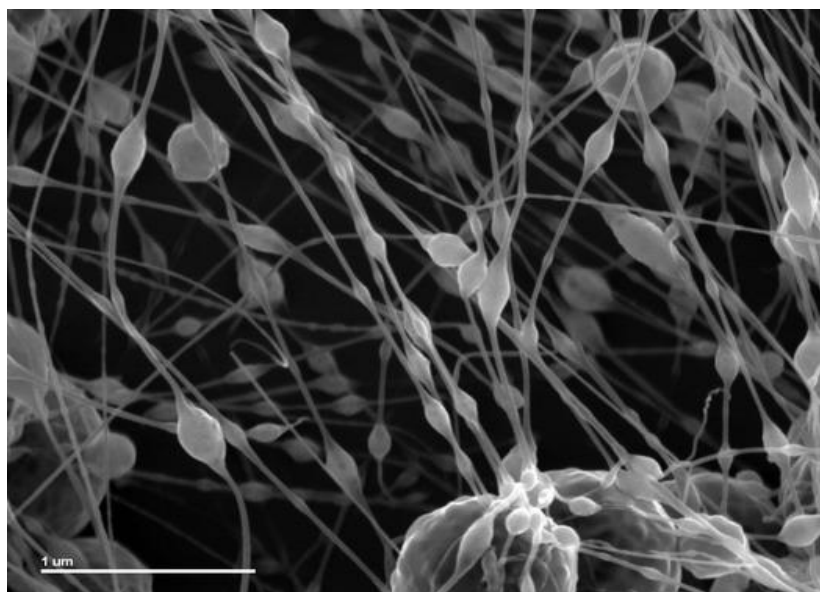
| | |
|-------------------------|------------------------|
| Okolní prostředí | - teplota - vlhkost |
|-------------------------|------------------------|

Tab. 2. – Prvky ovlivňující elektrostatické zvlákňování [9]

3. 4 Perličkový efekt

Perličkový efekt, znázorněný na obr. 3, je nežádoucí jev, který může vzniknout při elektrostatickém zvlákňování, kdy dochází k tvorbě kapek namísto vláken. Důvody vzniku perličkového efektu mohou být [9]:

- nízká viskozita polymerního roztoku
- nízké povrchové napětí polymerního roztoku
- nízká koncentrace polymerního roztoku (zředěné roztoky)
- velká rychlost při dodávání roztoku polymeru
- povrchově aktivní látky, které ovlivňují povrchové napětí polymerního roztoku



Obr. 3 – Perličkový efekt [10]

Perličky zhoršují kvalitu povrchu vláken a poté i výsledný vzhled výrobků, proto je třeba tento nedostatek odstranit. Mnohdy se dá snadno eliminovat například zvýšením koncentrace polymerního roztoku nebo snížením rychlosti dodávání roztoku polymeru. Avšak perličkový efekt je nejčastěji způsoben nízkým povrchovým napětím polymerního roztoku [9].

3. 5 Technologie Nanospider™

Nanospider™ je přístroj používaný na výrobu nanovláken pomocí elektrostatického zvlákňování v průmyslovém měřítku. Tato technologie, zobrazená na obr. 4, byla vyvinuta ve spolupráci firmy Elmarco s Technickou univerzitou v Liberci v roce 2004. Zakládá se na objevu, že je možné zvlákňovat nejen za pomoci kapiláry z kapky polymeru procházejícího tryskou do elektrického pole, ale také z tenké vrstvy polymerního roztoku. Umožňuje průmyslovou výrobu netkaných textilií tvořených vlákny o průměru 200 až 500 nanometrů. Při tomto postupu se zvlákňuje pomocí válečku a může vzniknout i několik Taylorových kuželů najednou, nejen pouze jeden, jak je tomu u tradičního elektrostatického zvlákňování z jehly. Díky tomu je produktivita toho přístroje vyšší nežli u ostatních metod [9, 11].



Obr. 4 – Technologie Nanospider™ [12]

U této metody se jako generátor nanovláken využívá rotující válec, proto se jí také říká beztrysková. Vysoké napětí je aplikováno na rotující válec, který se pomalu otáčí. Tímto pohybem je polymerní roztok nanesen na horní povrch válce, kde po překonání povrchového napětí jsou tvořeny Taylorovy kužely. Čím více Taylorových kuželů, tím vyšší je nejen produktivita, ale i homogenita a konzistentnější morfologie nanovláknenné vrstvy. Naproti generátoru vláken je kolektor, kde jsou výsledná vlákna sbírána [11, 13].

4. Poslední trendy ve vývoji hydrogelových nanovláknenných membrán

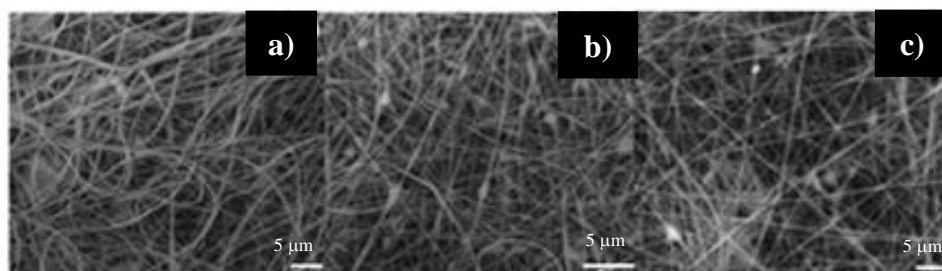
Tato kapitola pojednává o posledním vývoji hydrogelových nanovláknenných membrán. Jak již bylo několikrát zmíněno, tyto membrány se často aplikují ve zdravotnictví. Protože je i tato diplomová práce zaměřena na membrány s potenciální aplikací ve zdravotnictví, níže naleznete nedávno zveřejněné studie, které se zabývaly touto tematikou.

Faruk Gökmese a col. ve své práci zkoumali PVA/PVP nanovláknena, PVA/PVP s přídavkem jódu a PVA/PVP nanovláknena s přídavkem 5%-ního a 10%-ního chitosanu jako vhodné materiály pro krytí ran. Vláknena byla vyrobena elektrostatickým zvlákňováním a následně se testovala pomocí SEM, TGA, FTIR analýz a také pomocí viskozimetru a přístroje na měření vodivosti. Chitosan se do zvlákňovacího roztoku přidával kvůli zvyšování viskozity a elektrické vodivosti zvlákňovacího roztoku. Jako rozpouštědlo pro chitosan byla použita kyselina octová a ostatní polymery byly rozpuštěny v deionizované vodě [14].

Zvýšení vodivosti roztoku ovlivnilo průměr vláken. Viskozita chitosanového roztoku byla vysoká, proto přídavek chitosanu do směsi PVA/PVP mělo za následek zvýšení vodivosti směsi. Protože je náboj roztoku ovlivněn jeho viskozitou, měla konečná vlákna nižší průměr. Čím vyšší je hustota náboje, tím se zvýší elektrická síla působící na trysku a to ve výsledku vede ke snížení průměru vláken. [14]

Morfologie vláken byla testována pomocí SEM analýzy. PVA/PVP nanovláknena byla relativně homogenní s průměry vláken 247 nm. (obr 5a). Zatímco vlákna PVA/PVP s přídavkem 5%-ního chitosanu se na SEM snímcích jevila zkadeřená. Přidáním chitosanu do směsi mělo za následek nejen zvlněnou strukturu, ale také vznik perličkového efektu, viz obr 5b. Průměr těchto nanovláken byl výrazně nižší, průměrná hodnota byla stanovena na 168nm. Nejvyšší průměr, 298nm, měla nanovláknena vyrobená ze směsi PVA/PVP s přídavkem jódu. Obr 5c, zaměřující se na vlákna PVA/PVP s přídavkem jódu ukazuje, že zvlákňování této směsi také vedlo ke vzniku negativní jevu, tzv. perličkového efektu. Kvůli nižší vodivosti roztoku měla směs PVA/PVP s jódem nejvyšší tendenci tvořit perličky [14].

Velkou nevýhodou této práce je to, že nebyla dále rozvinuta myšlenka, jak se nanovláknna chovají po působení vody, zda bobtnají nebo jestli se rozpouští.



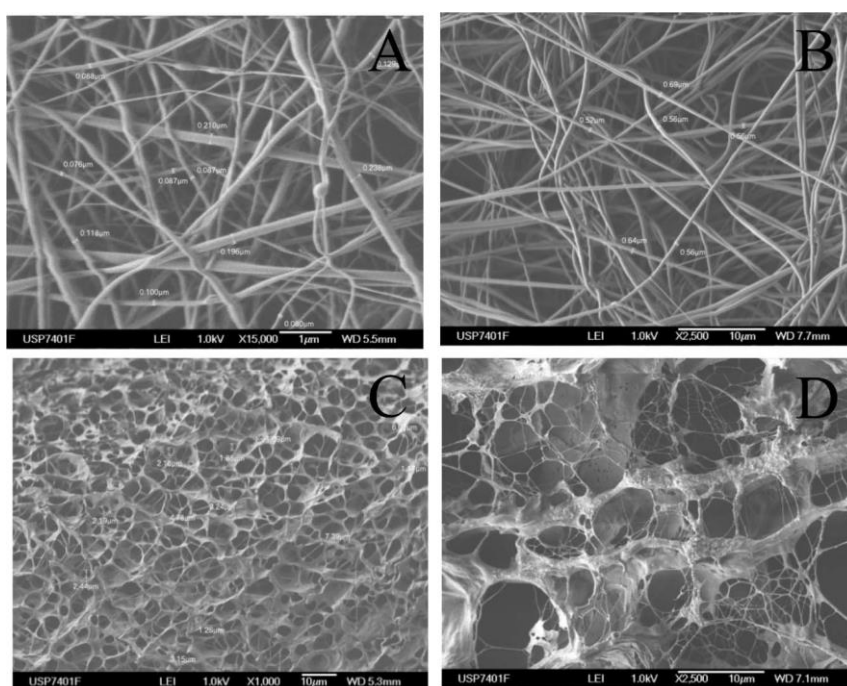
Obr. 5 – SEM snímky: a) PVA/PVP nanovláknna, b) PVA/PVP nanovláknna s přidavkem 5%-ního chitosanu, c) PVA/PVP nanovláknna s přidavkem jódu

Ve studii Renaty Fogaça a kol., která byla zaměřené na PVP hydrogelové membrány produkované elektrostatickým zvlákněním pro systém s postupným uvolňováním proteinů se autoři zabývali výrobou vysoce porézních hydrogelů s nánosem kolagenózy. Hydrogely jsou stále častěji používány u obvazových materiálů. Hojení ran je proces, který za pomoci biochemických procesů slouží k opravě poškozené tkáně, avšak proces hojení je mnohdy komplikován kvůli nekrotické tkáni či jizvám. Cílem je odstranit tyto neživé tkáně, které zpomalují proces hojení, a urychlit tak růst zdravých tkání. Tohoto je dosaženo vpravením enzymů, jako třeba kolagenu, do tkáně. Systémy na bázi hydrogelových nanovláknenných membrán byly nalezeny jako ideální na hojení ran díky svým vlastnostem - vysoce porézní struktura, měkkost, schopnost udržet ránu v ideálně vlhkém prostředí atd [15].

PVP ve formě prášku byl rozpuštěn v rozpouštědle ethanol (ETOH) a dimethylsulfoxid (DMSO) v objemovém poměru 1:1 a výsledný roztok byl elektrostaticky zvlákněn. Z vyrobených nanovláken bylo nutno vytvořit hydrogely pomocí zesítování. Toho bylo dosaženo dvěma způsoby. Za prvé byla vlákna vystavena UV-C záření ($\lambda = 254$ nm) a v druhém případě byla použita Fentonova reakce. V případě zesítování pomocí Fentonovy reakce byl do vláknenného roztoku přidán peroxid vodíku a po zvláknění byla nanovláknna ponořena do vodného roztoku FeSO_4 při různých koncentracích. Hovězí sérový albumin (BSA) byl jako modelový protein inkorporován do Franz difúzní buňky při teplotě 37°C . Tyto buňky byly následně po zvlákněování přidány do PVP hydrogelů a pomocí kolorimetrické metody bylo měřeno uvolňování BSA z membrány. Bylo zjištěno, že nejintenzivněji se uvolňoval protein z membrán v prvních deseti hodinách, z celkových 48 hodin [15].

V této práci se autoři také snažili ověřit účinek tří nejvýznamnějších proměnných při elektrostatickém zvlákňování: napětí, vzdálenost mezi jehlou a kolektorem a rychlost podávání. Z experimentů vyplynulo, že aplikované napětí je nejdůležitější proměnná vzhledem k průměrům vlákna. Zvýšení napětí mělo příznivé účinky na tvorbu tenkých vláken. Bylo zjištěno, že největší průměry vláken byly získány při nejnižším elektrickém napětí a naopak [15].

Nevýhodou této nanovlákněné vrstvy byla její morfologie po zesíťování, která neodpovídala nanovlákněné struktuře, nýbrž rozpadlé struktuře pěny s velkými póry, viz obr. 6 [15].



Autoři Uslu a Aytimur se zabývali výrobou a charakterizací PVA/PAA/PEG/PVP nanovláken s přídavkem aloe vera a s hydroxypropyl methyl celulózu (HPMC). Účelem jejich studie (rok 2013) bylo vytvořit obvazový materiál pro léčbu popálenin. Aloe vera, které obsahuje uhlovodíky a glukomannany, se často používá pro zmírnění bolesti, léčbu puchýřů, popálenin a kožních chorob. Ve zvláknovacím roztoku vede ke zvyšování povrchového napětí, vodivosti a pH, ale také do jisté míry ke snížení viskozity. Přídavek aloe vera ve směsi ovlivňuje krystalickou strukturu směsových polymerů a převádí je do amorfní struktury pomocí zvyšování příčných vazeb. Protože samotné aloe vera nemá dobré mechanické vlastnosti, je doporučováno směřovat ho se syntetickými polymery a dosáhnout tak optimálních vlastností. Proto bylo v této studii aloe vera míseno s HPMC, které se používá hlavně jako zahušťovadlo, stabilizátor, emulgátor nebo pomocná látka [16].

Byly vyrobeny čtyři směsi PVA/PAA/PEG/PVP/ HPMC s měnící se koncentrací aloe vera. První směs, značená jako směs „A“, byla připravena bez aloe vera, směs „B“ značila PVA/PAA/PEG/PVP/ HPMC s přídavkem 1%-ního aloe vera, směs „C“ s přídavkem 6%-ního aloe vera a poslední směs, která byla charakterizována písmenem „D“ obsahovala přídavek 10%-ního aloe vera. Elektrostatickým zvláknováním roztoku A se formovala lineární, homogenní vlákna, která ojediněle měla tendenci vytvářet perličky. Nanovláknem ze směsi B byla plochá a obsahovala ve srovnání s A směsí méně perliček. Zatímco nanovláknem ze směsi C byla jemnější než nanovláknem ze směsí A a B, ale také bylo patrné velké množství perliček a vlákna nebyla lineární. Největší úspěch byl zaznamenán se směsí D. Vzhledem k ostatním směsím, byla nanovláknem ze směsi D, nejmenší, nejvíce homogenní a s nejmenším sklonem ke tvorbě perliček [16].

Zajímavá byla také skutečnost, jak se mění průměry vláken vyrobené stejnou technologií, ale s rozdílnými koncentracemi aloe vera ve směsi. Průměr vláken ze směsi A dosahoval 228nm, ze směsi B 278nm, ze směsi C 202nm a nanovláknem zvlákněná ze směsi D, dosahovala průměrné hodnoty průměrů vláken 159nm [16].

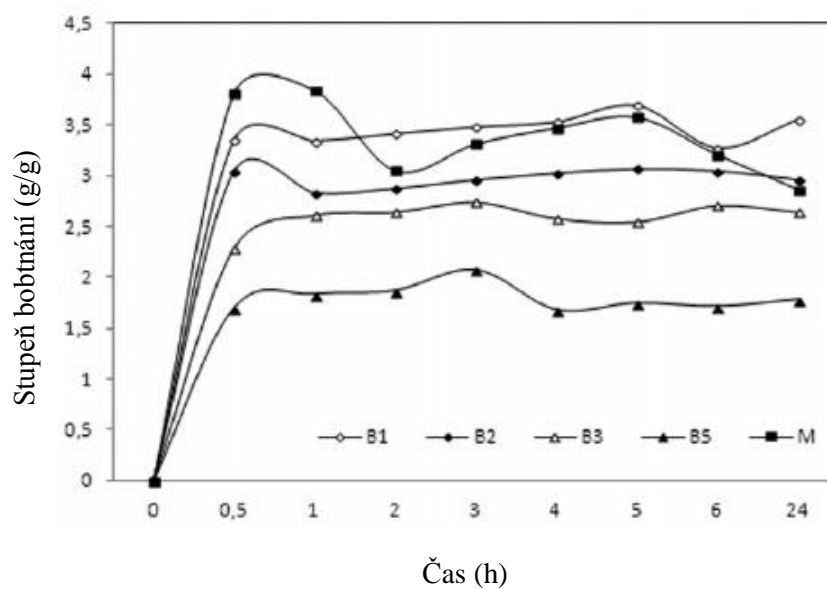
Tato práce se zaměřila na výrobu a zkoumání nanovláken z hlediska různých koncentrací aloe vera ve zvláknovací směsi. Bohužel nebylo uvedeno, jak se vlákna chovají po působení vody.

Ahmet Çay a Mohsen Miraftab si dali za cíl, vyrobit PVA hydrogelové membrány zesíťované pomocí 1,2,3,4 kyseliny butantetrakarboxylové (BTCA). Tyto sloučeniny byly vybrány kvůli jejich netoxičnosti a dobré mísitelnosti s vodou. Hydrogelové membrány vyrobené z PVA by opět měly sloužit ve zdravotnictví [17].

PVA ve formě prášku bylo rozpuštěno v destilované vodě a mohl tak vzniknout 12,5% roztok. Kvůli snížení povrchového napětí zvláknovacího roztoku byla do něj přidána neiontová povrchově aktivní látka. Protože byli zkoumány účinky BTCA na vlastnosti výsledného produktu, bylo zvláknování provedeno s následujícími koncentracemi: 1, 2, 3, a 5%, kdy BTCA bylo přidáno přímo do zvláknovacího roztoku. Po samotném elektrostatickém zvláknování byly získané nano-vláknenné vrstvy vystaveny tepelným účinkům horkovzdušné trouby po dobu 2 minut a na teplotu 180°C. Pro účely porovnání bylo také zvlákněno čisté PVA a také PVA, které bylo následně po zvláknění ošetřeno methanolem [17].

Odolnost membrán proti působení vody byla zkoumána jejich ponořením do destilované vody a ponecháním ve vodě po dobu 24 hodin a do vařící vody po dobu 1 hodiny. PVA nanovláknenné membrány se po působení vody okamžitě zmenšily a staly se plně transparentními. Na druhé straně, membrány zesíťované pomocí BTCA, zvětšily svůj objem a nebyla pozorována žádná změna barvy. Bylo prokázáno, že PVA nanovláknenné membrány ztratily až 94% svého původního objemu a jejich struktura nebyla zachována. Podobných výsledků dosahovaly i PVA membrány ošetřené methanolem. Zatímco PVA/BTCA membrány si i po působení vody zachovaly svoji vláknennou strukturu a bylo změřeno, že působením vody ztratily v průměru jen 6% z jejich počáteční hmotnosti [17].

Bylo zjištěno, že stupeň bobtnání membrán klesá se zvyšující se koncentrací BTCA ve směsi. Testováním bobtnavosti se došlo k závěrům, že PVA/BTCA vzorky mohou bobtnat mezi 150% - 350% vzhledem k jejich počáteční váze. Obecně platí, že výsledky bobtnavosti PVA/BTCA membrán nebyly příliš vysoké. Všechny výsledky bobtnání jsou zobrazeny v grafu 1 [17].



Graf 1 – Stupeň bobtnání zesíťovaných PVA/BTCA membrán v závislosti na čase [17]:

M – PVA nanovlákná ošetřená methanolem

B1 – PVA s 1% BTCA

B2 – PVA s 2% BTCA

B3 – PVA s 3% BTCA

B5 – PVA s 5% BTCA

5. PŘÍKLADY POUŽITÍ NANOVLÁKENNÝCH HYDROGELOVÝCH MEMBRÁN

V následující kapitole jsou popsány praktické příklady použití nanovláknenných membrán. Jedná se o obvazové materiály a systém řízeného dávkování léčiv.

5.1 Obvazové materiály

Obvazové materiály obecně slouží k zastavování krvácení, krytí ran, urychlení hojení i absorpci sekretů a liší se způsobem výroby, konstrukcí, surovinami a účelem použití. Pro aplikaci vyvíjeného materiálu v této diplomové práci je zajímavé hydrogelové krytí, které se používá pro odsátí vlhkých ran. Je schopné absorbovat a uchovat ve své struktuře kapalinu (až do 96%) a pomocí toho se docílí ideální klima pro hojení rány. Nejčastěji se vyskytuje v podobě gelových polštářků, které jsou opatřeny vrchní vrstvou. Příklad hydrogelového krytí s ochrannou vrstvou je znázorněno na obr. 7. Vrchní vrstva zajišťuje ochranu rány jednak před mechanickým poškozením, ale také před vnějšími tekutinami a bakteriemi, čímž se výrazně snižuje riziko infekce. Hydrogelové krytí je vhodné na popáleniny, odřeniny či kožní štěpy [3, 18].

V současné době je hydrogelové krytí ve formě polštářků stávajících z polymerních filmů. Proto vývojem nanovláknenné hydrogelové membrány by bylo možné potenciálně zvýšit absorpci kapalin a tím zlepšit samotné vlastnosti výsledného produktu ve formě náplasti [18].



Obr. 7 – Příklad hydrogelového krytí [18]

5. 2 Systém řízeného dávkování léčiv

V systémech řízeného dávkování léčiv slouží hydrogely jako nosiče pro aktivní látku, která je posupně uvolňována. Tyto systémy jsou nejčastěji určeny k perorálnímu použití, takže mají formu tablety, ale systém řízeného dávkování je možný také ve formě například náplastí (například náplasti na podporu odvykání kouření). Většinou reagují s podmětem, který jim dá signál začít se rozpouštět, nejčastěji to je pH. Systémy s řízeným dávkováním léčiv se používají stále více a důvodem jsou četné výhody při srovnání s klasickými formami léčiv například snížená frekvence dávkování a s tím i související zatěžování trávicího traktu, menší výskyt vedlejších obtíží a také řízené uvolnění aktivní látky za jednotku času [19, 20].

Látky vhodné pro systémy řízeného dávkování léčiv by měly být netoxické, biokompatibilní, biodegradabilní, dobře rozpustné a s výbornou propustností pro léčiva [19, 20].

5. 3 Scaffoldy

V tkáňovém inženýrství slovo scaffold znamená podpurný systém sloužící pro růst buněk nebo tkání. Polymerní scaffoldy se aplikují například při výrobě náhrady kolenní chrupavky. Princip spočívá v tom, že se z těla (člověka či pokusného zvířete) odeberou buňky, například autologní chondrocyty, které se kultivují a poté nanesou na již připravený scaffold. Po určitém čase, kdy jsou buňky plně integrované, je materiál připraven k implantaci na postižené místo. Takto připravený materiál je vložen zpět do těla pacienta či testovaného zvířete. Autonomní chondrocyty v těle začínají reagovat, vytvářet nové systémy a scaffoldy se postupně rozkládají. Proto je důležité, aby scaffoldy byly netoxické, biokompatibilní, nekarcinogenní a hlavně biodegradabilní [3].

Výrobu scaffoldů lze rozdělit dle technologie výroby na textilní a netextilní způsoby. Mezi netextilní se řadí technologie vymývání částic, zpěňování, separace fází či výroba hydrogelů. Textilní technologie vhodné pro výrobu scaffoldů jsou pletení a již zmiňované elektrostatické zvlákňování [3]. I v tomto případě by nově vyvinuté nanovlákněné hydrogelové membrány mohly být velice přínosné z hlediska vlastností popsaných v kap. 1.

II. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

6. EXPERIMENT

V první fázi experimentu bylo potřebné se zaměřit na typy polymerů, které by byly vhodné pro výrobu hydrogelových nanovláknenných membrán. Mísením polymerů se vytváří nové polymerní materiály. Vlastnosti finálních materiálů závisí na zvolené kombinaci polymerů, na jejich vzájemné interakci, na jejich stabilitě jako směsi, molekulární struktuře, teplotě tání a skelného přechodu, ale hlavně na jejich mísitelnosti, protože tento proces je možno uskutečnit pouze pokud jsou polymery navzájem mísitelné. Jinými slovy se dá říci, že mísitelnost závisí na specifické interakci polymerů nebo na intramolekulárním odporu [21, 22].

Jednou z hlavních výhod mísení je ta skutečnost, že lze získat polymerní materiál, který má rozdílné vlastnosti, než měl původní polymer. Musíme si však uvědomit, že fyzikální vlastnosti výsledného materiálu nezávisí pouze na polymerech, ale také na jejich vzájemné interakci [22].

Na základě studie Kaczmarka, Szalla a Kamińska, kteří se ve své práci zabývali komplexy kyseliny polyakrylové (PAA) s PVP a jejich fotostabilitou, byla jako první polymerní směs zvolena směs PVP/PAA. V jejich studii byla tato směs rozpuštěna ve vodném prostředí s různou koncentrací a pH, kde pro regulaci pH se do směsi přidával hydroxid sodný (NaOH). Výsledkem byly tenké polymerní filmy (~10 - 20 μm). Ty byly zesíťovány vystavením účinků nízké tlakové rtuťové. Poté se pomocí metody FTIR zkoumal stav vzorků před a po radiaci, kdy důraz byl kladen na změny v obsahu karbonylových a methylenových skupin. Bylo zjištěno, že směs PVP/PAA v poměru 50/50 tvořila zcela nerozpustný hydrogel ve vodě a mezi polymery vznikla vazba. Dokonce i malé množství jednoho polymeru přidaného k druhému byl dostatečným podmětem pro to, aby polymery mezi sebou začaly reagovat a tvořily chemickou vazbu [23].

Ve své práci autoři také prověřovali procentuální zastoupení gelu ve směsi, pokud se měnilo pH (s přídavkem a bez přídavku NaOH) a poměry PVP/PAA. Vždy porovnávali množství gelu před a po radiaci. Výsledky jsou znázorněny v tab. 3 [23].

| Poměr PAA/PVP | Množství gelu (%) | | |
|---------------|-------------------|------------|-----------------------------|
| | Před radiací | Po radiaci | Vzorky po radiaci + NaOH |
| 100/0 | 0 | 98 | 80 |
| 90/10 | 92 | 97 | 91 |
| 70/30 | 93 | 98 | 92 |
| 50/50 | 100 | 100 | 94 |
| 30/70 | 85 | 91 | 88 |
| 10/90 | 83 | 91 | 90 |
| 0/100 | 0 | 95 | 95 |

Tab. 3 – Množství gelu v závislosti na měnícím se poměru PVP/PAA [23]

UV radiace PVP/PAA směsí měla za výsledek zvyšování množství gelu. Z tabulky je patrné, že čisté PAA a čisté PVP byly před radiací ve vodě rozpustné a neobsahovaly gelové oblasti, zatímco po radiaci ano (98% a 95%). Zajímavý je také fakt, že pokud byly polymery v poměru 50/50, tak před i po radiaci dosahovaly 100%-ních hodnot. Dále se zkoumalo, jak se mění množství gelu ve filmu v alkalickém prostředí, proto byl do roztoku přidán NaOH. Bylo zjištěno, že v alkalickém prostředí se ve filmech objevilo menší množství gelu a filmy byly více rozpustné ve vodě [23].

Na základě studie Thakur, Mehak a Wanchoo (rok 2012) byla jako druhá varianta vhodného hydrogelu zvolena směs PVP/ chitosan. Autoři ve své práci připravovali 2%-ní roztok chitosanu rozpuštěný v 1%-ním roztoku kyseliny octové, do kterého přidali požadované množství glutaraldehydu. PVP bylo rozpuštěno v destilované vodě a výsledný 2%-ní roztok byl následně přidán do 2%-ního roztoku chitosanu. Do směsi PVP/chitosan bylo přidáno požadované množství glutaraldehydu. Tento roztok byl nalit do petriho misek, nejdříve byl volně sušen na vzduchu při pokojové teplotě, poté ve vakuu při teplotě 40°C po dobu 8 hodin. Výsledná forma produktu byl film, u kterého byly dále zkoumány stupeň bobtnání, stupeň rozpouštění a FTIR analýza. Glutaraldehyd se do směsi přidával za účelem zesíťování chitosanu s PVP a vzniku částečně prostupující polymerní sítě [24].

Bylo zjištěno, že stupeň bobtnání a rychlost rozpouštění polymerních filmů mohou být ovlivněny poměrem PVP ve směsi a stupněm zesíťování. Síťování omezuje pohyb polymerních řetězců a tím snižuje stupeň bobtnání filmů. Se zvětšujícím se poměrem PVP ve směsi bylo dosaženo vyššího stupně bobtnání a zároveň také vyššího

stupně rozpouštění polymerů. Důvodem tohoto jevu je zvýšená hydrofilita směsi, jelikož PVP jak je známo, je velmi hydrofilní polymer [24].

6. 1 Použité chemikálie

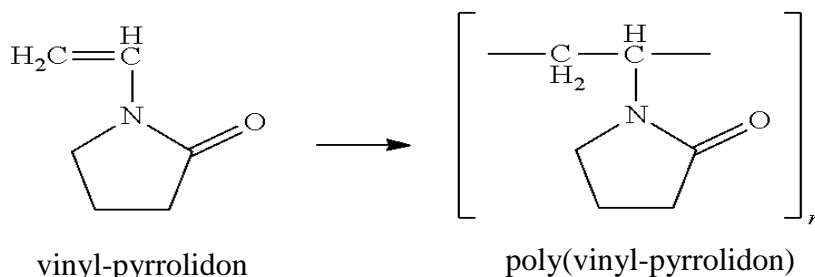
V následujících podkapitolách se seznámíme s chemikáliemi, které byly využívány při experimentu. Jednak budou v této kapitole popsány použité polymery, ale také i rozpouštědla jako kyselina citrónová, dimethylformamid (DMF), DMSO, ethylacetát (EA), ETOH, tetrahydrofuran (THF), isopropanol (ISOP), aceton (AC) a také povrchově aktivní látka Triton X-100, která přispívala k lepšímu průběhu elektrostatického zvlákňování.

6. 1. 1 PVP

PVP, jehož sumární vzorec je $(C_6H_9NO)_n$, je důležitý polymer, který má mnohostranné využití. Hojně je využíván v kosmetice, kde ho lze nalézt v lacích na nehty, ve sprejích na vlasy, make-upu, deodorantech, šampónech a v dalších kosmetických prostředcích. Setkáváme se s ním i ve formě lepidel nebo emulgátorů potravin. PVP je ve vodě rozpustný polymer, který má výtečné smáčivé vlastnosti, snadno tvoří tenké vrstvy, čehož se často využívá při nátěrech jiných materiálů [14].

PVP je poměrně snadno syntetizovatelný za pomoci radikálové polymerace N-vinyl-2-pyrrolidonu (NVP). K vyvolání takovéto reakce je třeba iniciátoru, například azobisisobutyronitrilu (AIBN). Tato reakce je zobrazena na obr. 8, kdy jde vidět, že se pomocí AIBN z monomeru stává polymer. Nejběžnější je radikálová polymerizace ve vodě, ale využívá se i radikálové polymerizace v organickém rozpouštědle, kdy výsledkem obou metod je PVP ve formě roztoku [14].

V experimentu byl nejprve použit PVP s molekulovou hmotností 1300 000g/mol, získaný od firmy Sigma Aldrich. Jako druhý typ PVP s nižší molekulovou hmotností 360 000 g/mol byl zvolen PVPK90 od firmy Sigma Aldrich.



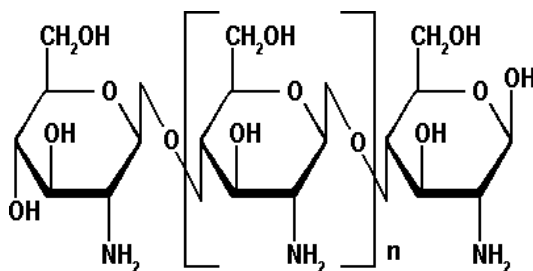
Obr. 8 – Radikálová polymerizace PVP [21]

6. 1. 2 Chitosan

Chitosan je lineární polysacharid, který je tvořen z opakujících se D-glukosaminových jednotek spojených β (1-4) glykosidovými vazbami (obr. 9). Vyskytuje se v přírodě jako jedna z hlavních složek krunýřů bezobratlých živočichů (krabů, korýšů, krevet apod.) nebo se dá laboratorně vyrobit N-deacetylací chitinu [23].

Jedná se o polymer nerozpustný ve vodě a také ve většině organických rozpouštědel při neutrálním pH. Je však rozpustný v kyselém prostředí, jehož hodnota pH je nižší než 6,5. Díky svým vlastnostem, jako je biokompatibilita a biologická rozložitelnost, se chitosan často používá ve zdravotnickém a potravinářském průmyslu. Chitosan má mnohostranné využití: přidává se při výrobě papíru, je obsažen v kosmetice a v zemědělství slouží jako hnojivo. Protože je čistý chitosan příliš křehký, často se mísí s jinými polymery, aby se dosáhlo lepších vlastností a zvýšila se tím jeho použitelnost [23].

Při experimentech se pracovalo s chitosanem 5 od firmy WakoPure Chemical Industries Ltd., který má molekulovou hmotnost 161,2 g/mol.



Obr 9. – Chemická struktura chitosanu [23]

6. 1. 3 PAA

PAA je nejjednodušší nenasycená organická kyselina se sumárním vzorcem $(C_3H_4O_2)_n$. Připravuje se roztokovou polymerací, např. z roztoku monomeru v toluenu. Jako suchý materiál je PAA ve formě bílého prášku, který je po zesíťování ve vodném prostředí schopen absorbovat mnohonásobně větší množství kapaliny než je jeho vlastní váha. Jako kapalina je PAA bezbarvá s charakteristickým štiplavým zápachem. PAA je ve vodě rozpustná. PAA se často nachází v kosmetických a nátěrových hmotách a také v potravinách. Protože je PAA schopno absorbovat velké množství kapaliny, často se používá jako superabsorbent v jádru dětských plen [14].

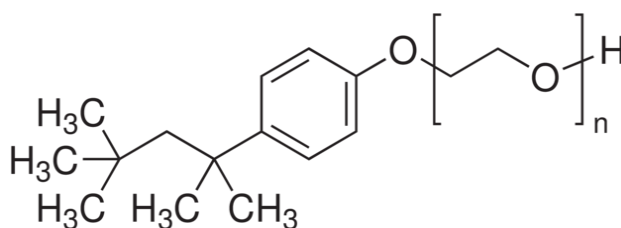
Pro experiment byla použita PAA s molekulovou hmotností 2.000g/mol získaná od firmy Sigma Aldrich.

6. 1. 4 Triton X-100

Triton X-100 byl v experimentu použit jako povrchově aktivní látka, která je určena pro snížení povrchového napětí zvláknovacího roztoku. Z kapitoly 4.3 je známo, že povrchové napětí roztoku je jeden z hlavních faktorů, ovlivňujících kvalitu zvláknování. Obecně se dá říci, že nižší povrchové napětí zvláknovacího roztoku má pozitivnější efekt na výsledek zvláknování [26].

Triton X-100, jenž je znázorněn na obr. 10, je ve vodě rozpustná kapalina s průměrnou molekulovou hmotností 625 g/mol. Jedná se o neiontovou povrchově aktivní látku, která obsahuje hydrofilní řetězce a je schopna absorbovat UV spektrum v přibližně stejné vlnové délce jako proteiny (280 μm) [26].

Pro experiment byl Triton X-100 pořízen od firmy Sigma Aldrich.



Obr. 10 – Chemický vzorec tritonu X [27]

6. 1. 5 NaCl

NaCl je čirá až bílá krystalická látka, dobře rozpustná ve vodě. Má mnohostranné využití. Používá se jako kuchyňská sůl, na konzervaci potravin nebo se přidává při výrobě mýdla. NaCl se běžně vyskytuje v přírodě ve formě nerostu [28].

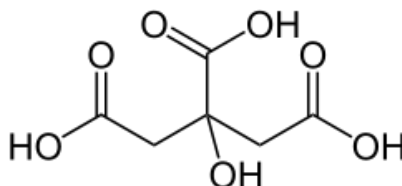
Do zvláknovacího roztoku byl chlorid sodný přidán z důvodu zvýšení elektrické vodivosti polymerního roztoku. Z kapitoly 4.3 je známo, že elektrická vodivost roztoku je jeden z hlavních faktorů, ovlivňujících výslednou kvalitu nanovláken. Vyšší elektrická vodivost roztoku znamená vyšší intenzitu zvláknování při elektrostatickém zvláknování [28].

6. 1. 6 Použitá rozpouštědla

- **Kyselina citrónová**

Jako rozpouštědlo pro PVP a chitosan byla při experimentech použita 10%-ní kyselina citrónová. Ta obsahuje skupinu - COOH, jedná se tedy o karboxylovou kyselinu se sumárním vzorcem $C_6H_8O_7$. Chemický vzorec kyseliny citrónové je znázorněn na obr. 11. Jak již název napovídá, tato látka se získává z citrusových plodů [29].

Kyselina citrónová je při pokojové teplotě bílá krystalická látka, která je velmi dobře rozpustná ve vodě a ETOH. Při různých koncentracích se kyselina citrónová používá jako emulgátor potravin E 330, k odstraňování vodního kamene nebo se přidává do čistících přípravků a mýdel [29].



Obr. 11 – Chemický vzorec kyseliny citrónové [29]

- **DMF**

DMF má molekulový vzorec C_3H_7NO . Jedná se o derivát formamidu, amidu kyseliny mravenčí, a vyrábí se katalyzovanou reakcí dimethylaminu a oxidu uhelnatého v methanolu. Je to bezbarvá kapalina, lehce mísitelná s vodou a s charakteristickým zápachem. DMF se používá jako rozpouštědlo pro polymery, ve farmaceutickém průmyslu nebo při výrobě filmů a postřiků [30].

- **DMSO**

DMSO je organosírová sloučenina s molekulovým vzorcem $(CH_3)_2SO$. DMSO je bezbarvá sloučenina mísitelná se širokou škálou rozpouštědel a dokonce i s vodou. Průmyslově se DMSO vyrábí oxidací dimethylsulfidu s kyslíkem nebo oxidem dusičitým. Využívá se hlavně v tradiční a alternativní medicíně jako lék proti bolesti, lék na snižování otoku nebo zánětu nebo jako přípravek na léčbu akné [31].

- **EA**

Jedná se o bezbarvou kapalinu s ovocným zápachem a se sumárním vzorcem: $C_4H_8O_2$. EA je mírně rozpustný ve vodě a ve většině organických rozpouštědel. Vyrábí se esterifikací kyseliny octové a ethylalkoholu za použití katalyzátoru (např.: kyseliny sírové atd.). Používá se jako rozpouštědlo, odlakovač, odstraňovač odolných skvrn, tvrdidlo, aditivum do potravin či se ho využívá při výrobě obalových materiálů [32].

- **ETOH**

ETOH, hovorově nazýván líh nebo alkohol, je bezbarvá kapalina typicky ostré vůně. Synteticky se ETOH připravuje katalytickou hydratací ethenu. Přírodní cestou se produkuje kvašením jednoduchých sacharidů. Nejznámějším využitím ETOHU je výroba alkoholických nápojů. ETOH se také přidává do pohonných hmot, deodorantů, čistících prostředků. Protože je snadno zápalný, je klasifikován jako hořlavina [33].

- **THF**

THF je organická látka běžně používána jako rozpouštědlo při výrobě polymerů, avšak také se přidává do lepidel nebo léčiv. Jedná se o bezbarvou kapalinu, která se vyrábí kysele katalyzovanou dehydratací butan 1,4-diolu nebo oxidací butanu. Je vysoce hořlavý a při expozici vzduchu samovznítitelný [34].

- **ISOP**

ISOP je široce použitelná kapalina na bázi alkoholu s typickým štiplavým zápachem. Je hořlavý a s vodou zcela mísitelný. Má širokou škálu použití jak v domácnostech, tak laboratořích nebo ve zdravotnictví. Slouží jako rozpouštědlo pro oleje, alkaloidy, gumy a pryskyřice. Díky tomu, že má ISOP vynikající čistící a odmašťovací účinky, přidává se do úklidových prostředků pro domácnost. Čistý ISOP je považován za toxický. Vyrábí se hydratací z vody a propenu [35].

- **AC**

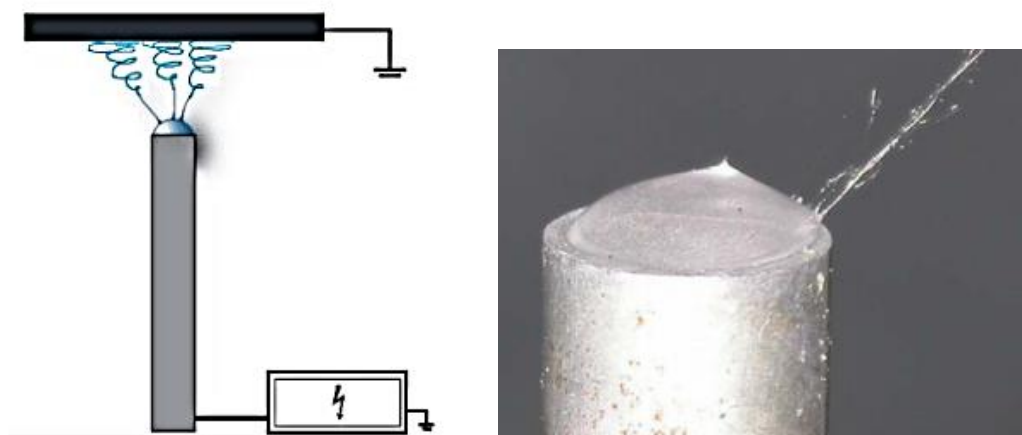
AC je čirá, těkavá kapalina, která se používá jako rozpouštědlo pro organické látky nebo při výrobě gumových částí (např.: podpatků). Vyrábí se oxidací isopropanolu, nebo rozkladem octanu vápenatého. Pro AC jsou charakteristické karbonylové skupiny, které způsobují jeho reaktivitu [36].

6. 2 Použitá zařízení

Všechna měření byla prováděna na Ústavu pro nanomateriály, pokročilé technologie a inovace. Přístroje, které sloužily k vytvoření a testování nanovláknenných membrán, jsou popsány níže.

- **Elektrostatické zvlákňování z tyčky**

Prvotní zvlákňování za účelem optimalizace roztoku, bylo prováděno pomocí elektrostatického zvlákňování z tyčky. Jedná se o bez-jehlové elektrostatické zvlákňování z kovové tyčky, viz obr. 12. Malé množství zvlákňovacího roztoku bylo nanášeno na vrchol kovové tyčky, která byla připojena ke zdroji elektrického napětí. Kolektorem v tomto případě byla kovová uzemněná deska, na kterou byl upevněn černý testovací papír.



Obr. 12 - Elektro spinning z tyčky [9]

- **Nanospider NS 1WS500U**

Vlastní zvlákňování, jehož účelem bylo vyrobit tenké nanovláknenné vrstvy ve větším formátu, bylo prováděno na produkční lince pro maloobjemovou výrobu Nanospideru NS 1WS500U. Jedná se opět o bez-jehlové zařízení, které umožňuje výměnu elektrodového systému. Při tomto experimentu byla použita strunová statická elektroda. Další výhodou Nanospideru je, že přístroj po celou dobu výroby nanovláknenné vrstvy sleduje procesní podmínky, jako je: teplota, vlhkost, elektrické napětí, průtok vzduchu a podobně. Tato data lze snadno převést do počítače.

- **Cirkulační horkovzdušná trouba**

K sušení a zesíťování nanovlákných hydrogelových membrán byla použita cirkulační horkovzdušná trouba Memmert UFE400. Tato nerezová trouba je nastavitelná až do teplot 300°C a rovnoměrná cirkulace vzduchu je zajištěna větrákem.

- **Rastrovací elektronový mikroskop**

K pořizování SEM snímků byl použit rastrovací elektronový mikroskop Carl Zeiss ULTRA Plus s mikroanalytickým systémem OXFORD Instruments. Ke zvýšení vodivosti byly vzorky pozlacovány pomocí iontově-odprašovacího systému SEM Mill 1060 od firmy Fischione a kombinovanou naprašovačkou Quorum Q15R ES.

- **Infračervený spektrometr**

Při analýze vzorků byl použit infračervený spektrometr Nicolet iZ10, Thermo Scientific s DTGS detektorem a Ge krystalem. Vzorky byly skenovány 16x a pozadí 32x. Bylo použito spektrální rozlišení 4 cm⁻¹ a spektrální rozsah byl v rozmezí 4000 – 700 cm⁻¹.

Úprava spekter byla provedena pomocí přídatného softwaru: atmospheric suppression, automatic baseline correction a baseline correction.

6.3 Použité testovací metody

Vlastnosti vyrobených hydrogelových membrán byly testovány pomocí níže uvedených metod. Byla zjišťována ne/rozpustnost hydrogelových nanovláken pomocí kapkové metody, dále stupeň bobtnání a rozpustnost hydrogelů ve vodě.

- **Kapková metoda – morfologie nanovláken po nabobtnání**

Kapková metoda sloužila pro prvotní určení rozpustnosti nebo nerozpustnosti hydrogelových nanovlákných membrán. Na jednotlivé vzorky po zesíťování bylo nakápnuto 100μl destilované vody a pouhým okem se sledovalo, jestli se rozpustily. Následně byly ponechány samovolnému vysušení kapky vody při laboratorních podmínkách a po jejich vysušení podrobeny SEM analýze.

- **Stupeň rozpouštění – procentuální podíl hydrogelu nerozpustného ve vodě**

Polymerní hydrogelové filmy se nejprve daly stabilizovat do cirkulační horkovzdušné trouby na 24 hodin při teplotě 60°C, z důvodu dodržení stejných podmínek před a po samotném měření. Po 24 hodinách byly vzorky zváženy, ponořeny do nádoby s definovaným množstvím destilované vody (100 ml) a vloženy na třepačku

Heidolph – Vibramax 110 po dobu dalších 24 hodin. Následující den byly vzorky pomocí spunbond textilie přefiltrovány a umístěny do horkovzdušné trouby na 24 hodin při teplotě 60°C. Po 24 hodinách, kdy byla ze vzorků odpařena všechna přebytečná voda, byly opět zváženy. Stupeň rozpouštění byl spočítán z hmotnosti vzorku před rozpouštěním a po rozpouštění ve vodě dle vzorce 2, který je uvedený v kapitole 1. 3. 1.

- **Stupeň bobtnání – množství vody, kterou je hydrogel schopný absorbovat**

Protože jsou hydrogely náchylné k nabírání okolní vlhkosti, byly vzorky před samotným měřením dány na 24 hodin při teplotě 60°C do horkovzdušné trouby Memmert a poté zváženy. Po zvážení se vzorky ponořily do 100ml destilované vody a byly ponechány bobtnání po dobu 30 minut. Po uplynutí stanoveného času byly vytaženy a položeny na filtrační papír kvalitativní o plošné hmotnosti $80 \pm 4 \text{ g/m}^2$, který je zbavil destilované vody z jejich povrchu. Po odsátí kapaliny filtračním papírem byly opět zváženy. Stupeň bobtnání byl vypočítán z váhy vzorků před bobtnáním a po 30-ti minutovém bobtnání v destilované vodě dle rovnice č. 4 (uvedený v kap. 1. 3. 2).

6. 4 Elektrostatické zvlákňování – výroba nanovláknenných membrán

Účelem tohoto experimentu bylo nalézt, optimalizovat a namíchat takovou směs dvou polymerů, která bude vhodná k elektrostatickému zvlákňování z hladiny polymerního roztoku. Jak již bylo uvedeno v cílech experimentální části, výsledným produktem měla být nanovláknenná membrána na bázi hydrogelů, jež se nerozpouští při kontaktu s kapalinou, je schopná absorbovat i zadržet velké množství vody a je vhodná pro aplikaci například ve tkáňovém inženýrství.

6. 4. 1 Polymerní směs PVP/PAA

Jako jeden z hlavních polymerů pro výrobu nanovláknenných membrán sloužil PVP, který je znám pro svoji biokompabilitu a biodegradabilitu, viz kapitola 2.1. Dalším polymerem do směsi byla vybrána PAA. Tato směs byla zvolena na základě výsledků studie Kaczmarka, Szalla a Kamińska, kteří se ve své práci zabývali komplexy PAA/PVP a jejich fotostabilitou, uvedené v kapitole 6. Následujícím bodem bylo vybrat vhodné rozpouštědlo nebo směs rozpouštědel, které budou schopny dané polymery bezproblémově rozpustit a vytvořit tak polymerní roztok vhodný pro elektrostatické zvlákňování. To, zda elektrostatické zvlákňování proběhne nebo ne, je ovlivněno řadou faktorů. Mezi nejdůležitější lze zařadit povrchové napětí a elektrickou vodivost zvlákňovaného roztoku. Na tyto vlastnosti z podstatné části působí použitá rozpouštědla.

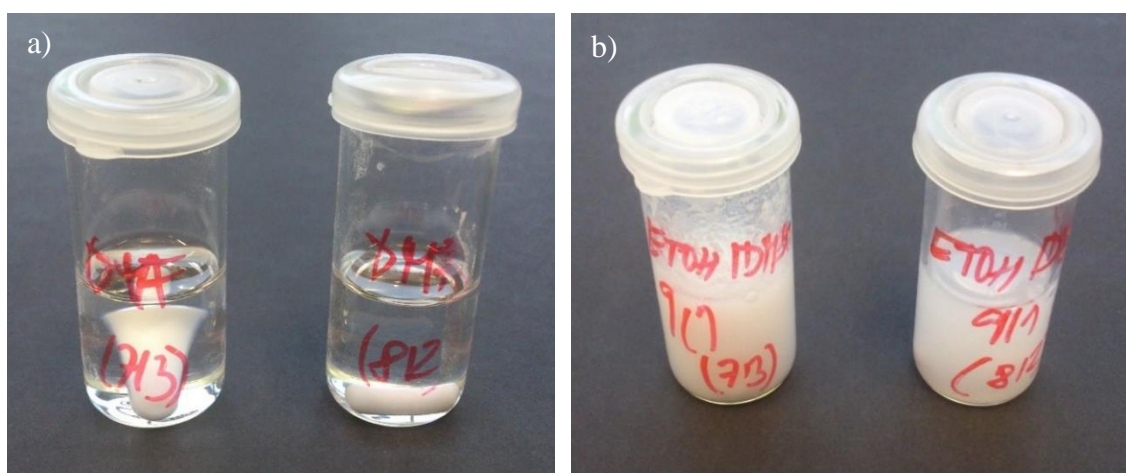
V experimentu bylo povrchové napětí upravováno povrchově aktivní látkou Tritonem X-100 a elektrická vodivost byla měněna přidávkem nasyceného roztoku NaCl.

Pro směs polymerů PVP/PAA byla navržena následující rozpouštědla: ISOP/ETOH, ETOH/DMSO a čistý DMF v různých objemových poměrech popsanych v tab. 4, 5 a 6, které jsou uvedené níže v této kapitole.

Diskuze výsledků

U rozpouštědel ISOP/ETOH a ETOH/DMSO v objemových poměrech 9/1 a 6/4 vznikl zakalený roztok už při samotném míchání, v němž začala reakce mezi polymery PVP-PAA, a takto zreagované roztoky, již nebyly vhodné k dalšímu zpracování. Důvodem reakce je přítomnost velkého množství alkoholu použitého jako rozpouštědla, který reaguje s PAA. V případě čistého DMF a ETOH/DMSO v objemových poměrech zobrazených v tab. 4 vznikl čirý roztok po smíchání PVP s PAA, který se dále zpracovával metodou elektrostatického zvlákňování z volného povrchu. Na obr. 13 lze vidět rozdíl mezi roztokem vhodným ke zvlákňování a roztokem, ve kterém začala reakce mezi samotnými polymery již při míchání roztoků.

Pro elektrostatické zvlákňování byly nastaveny konstantní podmínky: vzdálenost zvlákňovací trysky od kolektoru 10 cm a napětí 30 kV. Při zvlákňování ETOH/DMSO nebyla evidována existence nanovláken. Při zvlákňování PVP/PAA v čistém DMF byly viditelné nanovláknenné plochy na testovacím černém papíře, ale zvlákňování probíhalo pouze z okrajů zvlákňovací elektrody.



Obr. 13: a) Ukázka čirých roztoků vhodných ke zvlákňování

b) Roztoky, v nichž začala gelace

Byla zkoumána další rozpouštědla, která by mohla rozpustit polymery PVP a PAA. Jednalo se o následující směsi rozpouštědel: AC/DMSO, THF/DMSO a EA/DMSO. Bohužel všechna zmíněná rozpouštědla byla shledána jako nevhodná. Polymery se v nich buď nerozpustily anebo v nich vznikla gelace již při samotném míchání. Více informací ohledně přesných poměrů rozpouštědel lze nalézt v tab. 5.

S čistým rozpouštědlem DMF byly získány poměrně pozitivní výsledky, ale zvlákňování probíhalo opět pouze z okrajů zvlákňovací elektrody. I když byla zvýšena vzdálenost zvlákňovací trysky od kolektoru na 15 cm, zvlákňování probíhalo pouze z okrajů (nanovláknna formována do tvaru hvězdy na podkladovém sběrném černém papíře). Tento negativní jev není vhodný pro technologii Nanospider (kontinuální příprava nanovláken), kde je nutné, aby se zvlákňování uskutečnilo z celého povrchu zvlákňovacího roztoku. Proto byla do roztoků DMF přidána povrchově aktivní látka, Triton X-100, a zvlákňování bylo opakováno při vzdálenosti trysky od kolektoru 10 cm s napětím 30kV. Dalším experimentem bylo přidání nasyceného roztoku NaCl do zvlákňovacího roztoku, což je látka vhodná pro zvýšení elektrické vodivosti roztoku. Na závěr byla zkoušena kombinace DMF + NaCl + Triton X-100. Výsledky měření jsou zobrazeny v tab. 6 a také na obr. 14. Právě z obrázku je patrné, že i s přidavkem povrchově aktivní látky byla vlákna formována do tvaru hvězdy a nanovláknna netvořila požadovanou jednotnou vrstvu v celé ploše.



Obr. 14 - Zvlákňování PVP/PAA rozpuštěných v:

a) Čisté DMF

b) DMF + NaCl + triton X-100

c) DMF + NaCl

d) DMF + triton X-100

Směs PVP/PAA rozpuštěná v DMF měla tendenci tvořit nanovlákná, ale stále se nedařilo získat požadovanou celoplošnou vrstvu nanovláken. Předpoklad byl takový, že PVP má příliš dlouhé polymerní řetězce, které brání zvlákňování. Proto byl původní PVP s molekulovou hmotností 1.300.000 g/mol nahrazen PVP s molekulovou hmotností nižší a to 360.000 g/mol a poté bylo provedeno zvlákňování s novým PVP. Protože byl použit polymer s molekulovou hmotností nižší, byly vytvořeny 7%-ní a 10%-ní PVP roztoky. Podrobnější informace o poměrech a koncentracích jsou k vidění v tab. 7.

| PVP / PAA (10% / 10%) (7/3) | | | | | |
|--|--|--|--|--|--------------------------------------|
| Rozpouštědla | ISOP/ETOH | ISOP/ETOH | DMF | ETOH/DMSO | ETOH/DMSO |
| Poměry rozpouštědel | 9/1 | 6/4 | Čistý. | 9/1 | 6/4 |
| Komentář k polymerním roztokům | Roztok měl bílou barvu a zgelovatěl již při samotném míchání. Nevhodné ke zvlákňování. | Vznikl zakalený roztok, hustší konzistence. Nevhodné ke zvlákňování. | Čirý roztok, vhodný ke zvlákňování. | Zakalený roztok. Mezi polymery již začala reakce. Nevhodné ke zvlákňování. | Čirý roztok, vhodný ke zvlákňování. |
| Vzdálenost mezi elektrodami (cm) | --- | --- | 10 | --- | 10 |
| Napětí (kV) | --- | --- | 30 | --- | 30 |
| Komentář ke zvlákňování | --- | --- | Viditelné bílé plochy, ale zvlákňování pouze z okrajů elektrody. | --- | Na papíře viditelné mokré oblasti. |
| PVP / PAA (10% / 10%) (8/2) | | | | | |
| Rozpouštědla | ISOP/ETOH | ISOP/ETOH | DMF | ETOH/DMSO | ETOH/DMSO |
| Poměry rozpouštědel | 9/1 | 6/4 | čistý | 9/1 | 6/4 |
| Komentář k polymerním roztokům | Bílý roztok s tužší konzistencí. Nevhodné ke zvlákňování. | Zakalený roztok. Nevhodné ke zvlákňování. | Čirý roztok, vhodný ke zvlákňování. | Zakalený roztok. Mezi polymery již začala reakce. Nevhodné ke zvlákňování. | Čirý roztok, vhodný ke zvlákňování. |
| Vzdálenost mezi elektrodami (cm) | --- | --- | 10 | --- | 10 |
| Napětí (kV) | --- | --- | 30 | --- | 30 |
| Komentář ke zvlákňování | --- | --- | Na papíře viditelné bílé plochy. Zvlákňování pouze z okrajů elektrody. | --- | Žádné viditelné nanovlákněné plochy. |

Tab. 4 – Výsledky zvlákňování roztoků PVP/PAA s rozpouštědly: ISOP/ETOH, ETOH/DMSO a DMF

| PVP/PAA (10% / 10%) (7/3) | | | |
|--|--|---|---|
| Rozpouštědla | AC/DMSO | THF/DMSO | EA/DMSO |
| Poměry rozpouštědel | 9/1 | 9/1 | 9/1 |
| Komentář k polymerním roztokům | Zakalený roztok s tužší konzistencí. Polymery mezi sebou začali reagovat. Nevhodné ke zvlákňování. | Zakalený roztok, kde začala před gelace. Nevhodné ke zvlákňování. | Polymery se v daném rozpouštědle nerozpustily. Nevhodné ke zvlákňování. |
| Vzdálenost mezi elektrodami (cm) | --- | --- | --- |
| Napětí (kV) | --- | --- | --- |
| Komentář k zvlákňování | --- | --- | --- |
| PVP/PAA (10% / 10%) (8/2) | | | |
| Rozpouštědla | AC/DMSO | THF/DMSO | EA/DMSO |
| Poměry rozpouštědel | 9/1 | 9/1 | 9/1 |
| Komentář k polymerním roztokům | Vznikl hustší roztok. Polymery se nerozpustily. Nevhodné ke zvlákňování. | Nevhodné ke zvlákňování. | Polymery se nerozpustily. Nevhodné ke zvlákňování |
| Vzdálenost mezi elektrodami (cm) | --- | --- | --- |
| Napětí (kV) | --- | --- | --- |
| Komentář k zvlákňování | --- | --- | --- |

Tab. 5 – Výsledky zvlákňování PVP/PAA roztoků s rozpouštědly: AC/DMSO, THF/DMSO a EA/DMSO

| PVP/PAA (10%/10%) (7/3) | | | |
|--|--|--|---|
| Rozpouštědla | DMF + Triton X-100 | DMF + NaCl | DMF + Triton X-100+ NaCl |
| Koncentrace rozpouštědel | 10% + 3% | 10% + 16% | 10% + 3% + 16% |
| Komentář k polymerním roztokům | Čirý roztok, vhodný ke zvlákňování. | Čirý roztok, vhodný ke zvlákňování. | Čirý roztok, vhodný ke zvlákňování. |
| Vzdálenost mezi elektrodami (cm) | 10 | 10 | 10 |
| Napětí (kV) | 30 | 30 | 30 |
| Komentář k zvlákňování | Viditelné bílé plochy, ale zvlákňování pouze z okrajů elektrody. | Zvlákňování probíhalo pouze o okrajů elektrody. | Vznikaly bílé plochy s nanovláknky, které se formovaly do tvaru hvězdy. |
| PVP/PAA (10%/10%) (8/2) | | | |
| Rozpouštědla | DMF + Triton X-100 | DMF + NaCl | DMF + Triton X-100+ NaCl |
| Koncentrace rozpouštědel | 10% + 3% | 10% + 16% | 10% + 3% + 16% |
| Komentář k polymerním roztokům | Čirý roztok, vhodný ke zvlákňování. | Čirý roztok, vhodný ke zvlákňování. | Čirý roztok, vhodný ke zvlákňování. |
| Vzdálenost mezi elektrodami (cm) | 10 | 10 | 10 |
| Napětí (kV) | 30 | 30 | 30 |
| Komentář k zvlákňování | Vznikaly bílé plochy, které se formovaly do tvaru hvězdy. | Na testovacím papíře byla místy viditelná nanovláknka. Zvlákňování pouze z okrajů. | Místy viditelná bílá místa. Nepravidelné rozložení bílých ploch. |

Tab. 6 - Výsledky zvlákňování PVP/PAA roztoků s rozpouštědly DMF a DMF s přídavkem Tritonu X 100 a NaCl

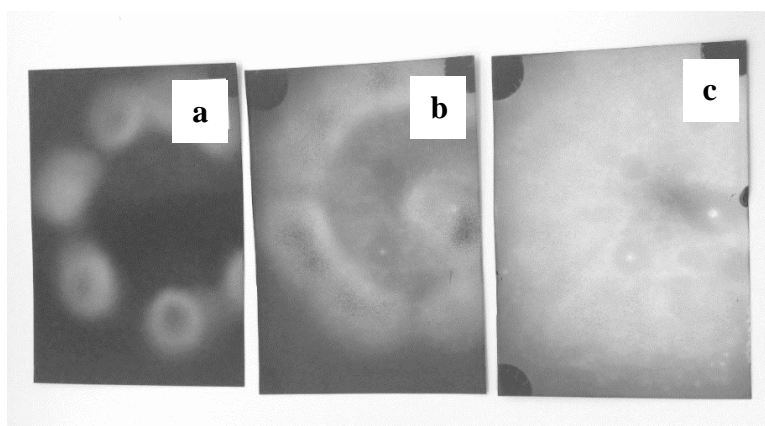
| PVP/PAA (7% / 10%) | | | | |
|--|---|--|---|---|
| Poměry PVP (360.000 g/mol) a PAA | (7/3) | | (8/2) | |
| Rozpouštědla | DMF | DMF + Triton X- 100 + NaCl | DMF | DMF + Triton X- 100+ NaCl |
| Koncentrace rozpouštědel | Čistý. | 10% + 3% + 16% | Čistý. | 10% + 3% + 16% |
| Komentář k polymerním roztokům | Čirý roztok, vhodný ke zvlákňování. | Čirý roztok, vhodný ke zvlákňování. | Čirý roztok, vhodný ke zvlákňování. | Čirý roztok, vhodný ke zvlákňování. |
| Vzdálenost mezi elektrodami (cm) | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Napětí (kV) | 30 | 30 | 30 | 30 |
| Komentář k zvlákňování | Na testovacím papíře vznikaly bílé kruhy, které nebyly dobře viditelné. | Na papíře se objevily bílé půlkruhy, které neměli tendenci vytvářet malou vrstvu nanovláken. | Vznikaly bílé plochy, které se formovaly do tvaru hvězdy | Nepravidelné rozložení bílých ploch. Zvlákňování pouze z krajů elektrody a ne z celého povrchu. |
| PVP/PAA (10% / 10%) | | | | |
| Poměry PVP (360.000 g/mol) a PAA | (7/3) | | (8/2) | |
| Rozpouštědla | DMF | DMF + Triton X- 100+ NaCl | DMF | DMF + Triton X- 100+ NaCl |
| Koncentrace rozpouštědel | Čistý. | 10% + 3% + 16% | Čistý. | 10% + 3% + 16% |
| Komentář k polymerním roztokům | Čirý roztok, vhodný ke zvlákňování. | Čirý roztok, vhodný ke zvlákňování. | Čirý roztok, vhodný ke zvlákňování. | Čirý roztok, vhodný ke zvlákňování. |
| Vzdálenost mezi elektrodami (cm) | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Napětí (kV) | 30 | 30 | 30 | 30 |
| Komentář k zvlákňování | Na testovacím papíře byla místy viditelná nanovlákna. | Místy viditelná bílá místa. Nepravidelné rozložení bílých ploch. | Zvlákňování pouze z krajů elektrody a ne z celého povrchu. | Na testovacím papíře vznikaly bílé kruhy. |

*Tab. 7 – Výsledky zvlákňování PVP/PAA roztoků s rozpouštědly: DMF, DMF
s Tritonem X 100 nebo s NaCl*

6. 4. 2 Polymerní směs PVP/chitosan

Protože výsledky zvlákňování směsi PVP/PAA byly neuspokojivé, bylo třeba najít nový polymer do kombinace s PVP. Dalším vhodným polymerem se jevil chitosan, viz kapitola 2.1. Následující namáchanou směsí byla směs PVP/chitosan, kdy jako rozpouštědlo pro oba polymery se přidal vodný roztok kyseliny citrónové o koncentraci 10%. Byly připraveny kombinace PVP/chitosan, ve kterých byl použit PVP o dvou molekulových hmotnostech (360 000 a 1 300 000 g/mol) s hmotnostními koncentracemi chitosanu (5 a 8%) a s hmotnostní koncentrací PVP 10%.

Byly nastaveny konstantní podmínky zvlákňování: vzdálenost zvlákňovací trysky od kolektoru 10 cm a napětí 50 kV. Vše je podrobněji popsáno v tab. 8 a 9. Nejlepší výsledek utvořila směs PVP/chitosan s PVP o molekulové hmotnosti 360.000 g/mol s 5%-ním chitosanem v objemovém poměru 9/1, kdy se na testovacím papíře utvořila celoplošná vrstva nanovláken (obr. 15).



Obr. 15 – Výsledky zvlákňování PVP s nižší molekulovou hmotností a 5%-ního chitosanu v různých objemových poměrech:

a) PVP/chitosan – 5/5

b) PVP/chitosan – 7/3

c) PVP/chitosan – 9/1

| PVP/ chitosan (10% / 5%) | | | | | | |
|---|---|--|--|--|---|---|
| Poměry PVP a chitosanu | 5/5 | | 7/3 | | 9/1 | |
| PVP – molekulová hmotnost | PVP 360.000 | PVP 1.300.000 | PVP 360.000 | PVP 1.300.000 | PVP 360.000 | PVP 1.300.000 |
| Rozpouštědla | 10%-ní kyselina citronová | 10%-ní kyselina citronová | 10%-ní kyselina citronová | 10%-ní kyselina citronová | 10%-ní kyselina citronová | 10%-ní kyselina citronová |
| Komentář k polymerním roztokům | Polymer plně rozpuštěn. | Polymer plně rozpuštěn. | Polymer plně rozpuštěn. | Polymer plně rozpuštěn. | Polymer plně rozpuštěn. | Polymer plně rozpuštěn. |
| Vzdálenost mezi elektrodami (cm) | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Napětí (kV) | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| Komentář k zvlákňování | Na testovacím papíře vznikaly bílé kruhy, které nebyly dobře viditelné. | Viditelná bílá místa, ale zvlákňování pouze z krajů elektrody a ne z celého povrchu. | Začala se formovat nanovlákná, ale zvlákňování probíhalo pouze z okrajů. Vznikaly bílé kruhy. | Začala vznikat tenká vrstva nanovláken. Nanovlákná se formovala do půlkruhu. | Zvlákňování z celého povrchu. Nejllepší výsledek. | Vznikaly bílé půlkruhy, které měly tendenci vytvářet vrstvu nanovláken |

Tab. 8 - Výsledky zvlákňování PVP a 5%-ního chitosanu

| PVP/ chitosan (10% / 8%) | | | | | | |
|---|---|---|---|--|---|--|
| Poměry PVP a chitosanu | 5/5 | | 7/3 | | 9/1 | |
| PVP – molekulová hmotnost | PVP 360.000 | PVP 1.300.000 | PVP 360.000 | PVP 1.300.000 | PVP 360.000 | PVP 1.300.000 |
| Rozpouštědla | 10%-ní kyselina citrónová | 10%-ní kyselina citrónová | 10%-ní kyselina citrónová | 10%-ní kyselina citrónová | 10%-ní kyselina citrónová | 10%-ní kyselina citrónová |
| Komentář k polymerním roztokům | Polymer plně rozpuštěn. | Polymer plně rozpuštěn. | Polymer plně rozpuštěn. | Polymer plně rozpuštěn. | Polymer plně rozpuštěn. | Polymer plně rozpuštěn. |
| Vzdálenost mezi elektrodami (cm) | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Napětí (kV) | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| Komentář k zvláknování | Na testovacím papíře začínala být viditelná bílá místa. Vznikala mokrá vlákna. | Zvláknování z okrajů. Bílá místa, která měla kruhový tvar. | Na testovacím papíře vznikaly bílé kruhy. | Bílá vlákna, ale zvláknování pouze z okrajů. Vznikaly obrazce ve tvaru hvězdy. | Na papíře se objevily bílé půlkruhy, které měly tendenci vytvářet malou vrstvu nano- vláken. | Místy viditelné bílé půlkruhy. Nepravidelné rozložení bílých ploch. |

Tab. 9 - Výsledky zvláknování PVP a 8%-ního chitosanu

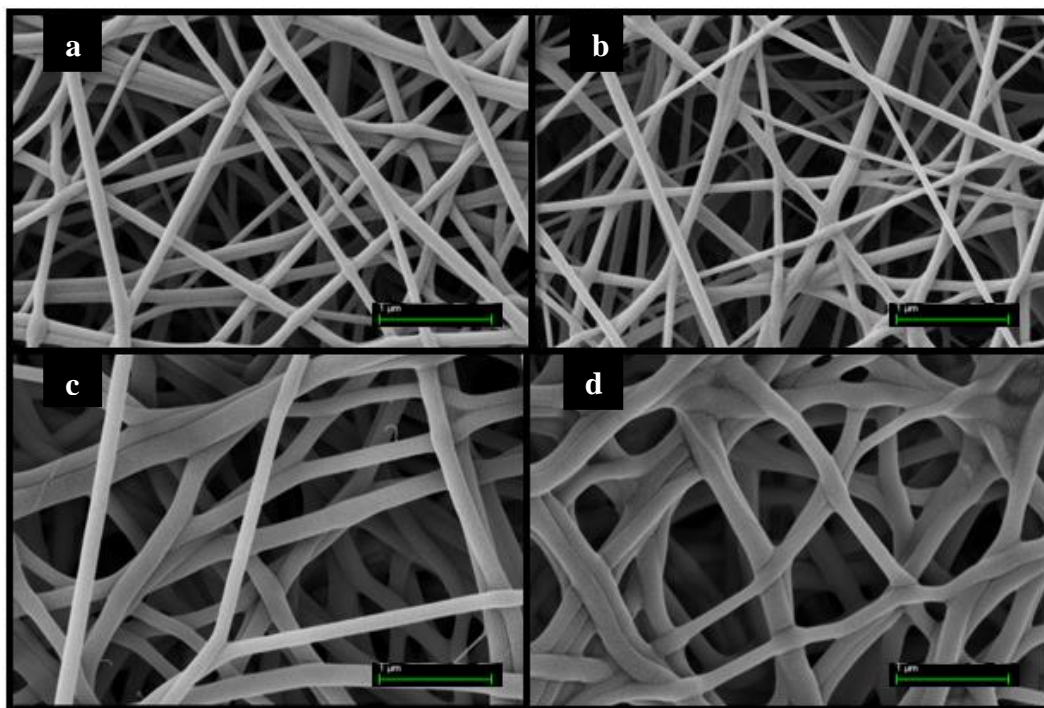
Z důvodu menších procesních a časových nákladů byla optimalizace polymerního roztoku prováděna pomocí zvlákňování z tyčky. Z výsledků vyplynulo, že z hlediska intenzity zvlákňování měly nejlepší výsledky pokusy s 10%-ním PVP s molekulovou hmotností 360 000 g/mol v kombinaci s 5%-ním chitosanem.

Jelikož předešlým experimentem byly nalezeny optimální polymery a jejich rozpouštědlo, další zvlákňování probíhalo na přístroji Nanospider NS 1WS500U se strunovou statickou elektrodou. Při zvlákňování se měnily objemové poměry PVP/chitosan 9/1, 7/3 a 6/4 z důvodu následného porovnání rozpustnosti a bobtnavosti výsledných nanovláknenných membrán. Pro další popis byla jednotlivým poměrům PVP/chitosan přidělena velká písmena, kdy „A“ znamená objemový poměr PVP/chitosan 9/1, „B“ bylo přiřazeno objemovému poměru PVP/chitosan 7/3 a písmeno „C“ značí objemový poměr PVP /chitosan 6/4.

Pro tento experiment byly nastaveny konstantní podmínky zvlákňování: napětí 70kV a vzdálenost mezi elektrodami 17,5cm. Průměrné klimatické podmínky byly: teplota 23.64°C a vlhkost 24.4%.

Diskuze výsledků

Na obr. 16 a v tab. 10 je znázorněn rozdíl v průměrech nanovláken při rozdílných metodách zvlákňování, tyčka versus Nanospider. Z tabulky lze vyčíst, že vlákna vyrobená pomocí Nanospideru dosahovala větších průměrů, než vlákna vyrobená zvlákňováním z tyčky. Avšak tento jev lze případně do budoucna změnit zvětšením vzdálenosti mezi elektrodami nebo zvýšením zvlákňovacího napětí. Ze snímků je dále patrné, že poměr PVP/chitosan nijak významně neovlivňoval morfologii nanovláken. Při porovnání snímků membrán vyrobených stejným způsobem s různým poměrem PVP a chitosan je na první pohled vidět stejná nanovláknenná struktura bez defektů.



Obr. 16 – Nanovláknna vyrobená rozdílným způsobem elektrostatického zvlákňování – z tyčky a Nanospideru:

a) Směs A z tyčky

b) Směs C z tyčky

c) Směs A z Nanospideru

d) Směs C z Nanospideru

| | Z TYČKY „A“ | Z TYČKY „C“ | NANOSPIDER „A“ | NANOSPIDER „C“ |
|--|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 1. Měření [μm] | 104 | 106 | 130 | 184 |
| 2. Měření [μm] | 138 | 105 | 174 | 237 |
| 3. Měření [μm] | 80 | 88 | 136 | 246 |
| 4. Měření [μm] | 117 | 90 | 157 | 156 |
| 5. Měření [μm] | 99 | 99 | 119 | 174 |
| 6. Měření [μm] | 127 | 79 | 138 | 220 |
| 7. Měření [μm] | 78 | 89 | 182 | 237 |
| 8. Měření [μm] | 114 | 95 | 197 | 180 |
| 9. Měření [μm] | 78 | 89 | 169 | 141 |
| 10. Měření [μm] | 105 | 124 | 138 | 224 |
| Průměr [μm] | 104,00 | 96,40 | 154,00 | 199,90 |
| Směrodatná odchylka [μm] | 20,84 | 12,74 | 24,30 | 37,39 |
| Variační koeficient [%] | 20,04 | 13,21 | 16,63 | 18,70 |
| 95% interval spolehlivosti [μm] | <91,08; 116,92> | <88,50; 104,30> | <138,13; 169,87> | <176,73; 223,07> |

Tab. 10 – Průměry nanovláken získaných rozdílným způsobem elektrostatického zvlákňování – z tyčky vs. Nanospideru

6. 4. 3 Polymerní roztok PVP

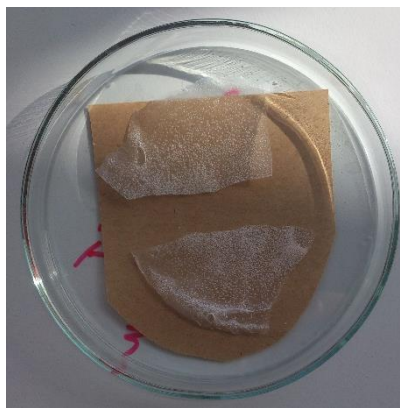
Z důvodu porovnávání rozpustnosti a bobtnavosti byl také zvlákněn čistý PVP roztok bez chitosanu. Byl připraven 10%-ní roztok, kdy PVP s molekulovou hmotností 360.000 g/mol byl rozpuštěn v 10%-ní kyselině citrónové a pro účely lepšího zvlákňování byli přidány: 3% Triton X-100 a NaCl v koncentraci 0,85 mol/l. Takto připravený roztok byl zvlákněn pomocí elektrostatického zvlákňování z volného povrchu za následujících podmínek: vzdálenost zvlákňovací trysky od kolektoru 10 cm a napětí 50 kV. Klimatické podmínky během zvlákňování byly: teplota 19,1°C a relativní vlhkost 38,5%. Zvlákňování probíhalo nejen z okrajů, ale z celého povrchu, viz obr 17.



Obr. 17 – Výsledek zvlákňování čistého PVP

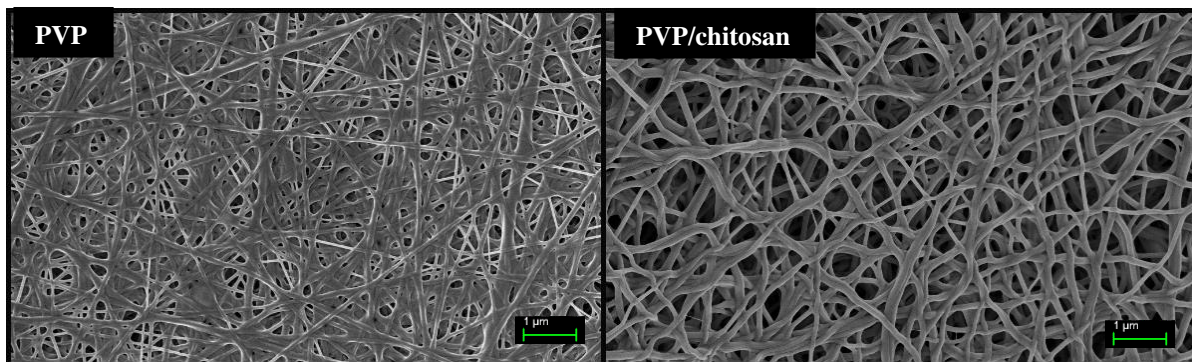
6. 4. 4 Výroba polymerních filmů

Pro porovnání vlastností hydrogelových nanovláknenných membrán byly připraveny hydrogely PVP/chitosan v poměru 9/1, 7/3 a 6/3 a čistý PVP ve formě filmů (obr. 18). Polymerní roztoky o objemu 10ml byly odlity do petriho misek vyložených hliníkovou fólií (kvůli snadnějšímu vyndávání filmů) a po dobu 24 hodin se polymerní roztoky nechaly odpařovat v sušárně Memert při teplotě 70°C, aby došlo k odpaření veškerého rozpouštědla a tvorbě filmu. Po odpaření přebytečného rozpouštědla byly filmy od hliníkové fólie odděleny.



Obr. 18 – Film vyrobený z čistého PVP

Obr. 19, zobrazuje SEM snímky, které poukazují na rozdíl v morfologii hydrogelových membrán, které byly vyrobené stejnou technologií, ale byly použity jiné zvláknovací roztoky. Struktura membrány vyrobené z čistého PVP, se jeví jako více uzavřená než struktura membrány vyrobené ze směsi B. Na první pohled je patrné, že vlákna z čistého PVP jsou bez jakýchkoliv úprav nabobtnalá a tím dokazují, že PVP hydrogelová nanovláknenná membrána je bez zesíťování schopna nabírat vzdušnou vlhkost.



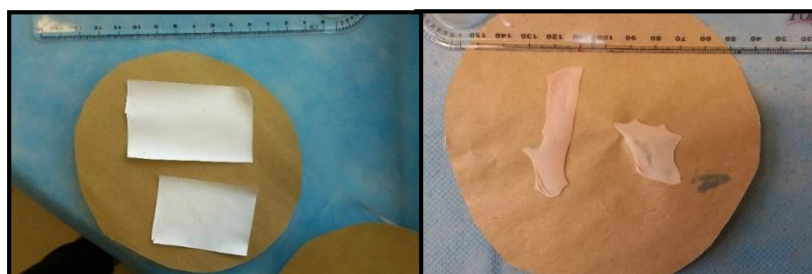
Obr. 19 – Rozdíl ve struktuře nanovláknenných membrán vyrobených z čistého PVP a směsi PVP/chitosan v objemovém poměru 7/3

6. 5 Zesíťování hydrogelových membrán a filmů

Pro zesíťování nanovláknenných membrán a filmů byla použita horkovzdušná trouba Memmert. Nanovláknenné membrány a filmy byly zesíťovány v půlhodinových a hodinových intervalech při teplotách 100, 120, 140 a 180°C.

Diskuze výsledků

Působením tepla vzorky měnily nejen vnitřní strukturu, ale také tvar a barvu, jak je vidět na obr. 20 a 21. S rostoucí teplotou, barva membrán i filmů byla intenzivnější. Při teplotě 180°C lze již pozorovat výrazné zbarvení membrán, proto lze právem tuto teplotu považovat za hraniční. Co se týče smrštění i zde platí, že s rostoucí teplotou je smrštění více znatelné. Také bylo zjištěno, že se nanovláknenné vrstvy smršťovaly více než filmy.



Obr. 20 – Nanovláknenná membrána před a po tepelném zesíťování na 140°C

| | | Teplota zesíťování | | | |
|--------|--|--------------------|-------|-------|-------|
| | | 100°C | 120°C | 140°C | 180°C |
| 30 min | | | | | |
| 60 min | | | | | |

Obr. 21 – Nanovláknenné membrány zesíťované při různých teplotách

7. Testování hydrogelových membrán a filmů

Hlavními testovanými parametry vyrobených membrán a filmů byla jejich ne/rozpustnost, stupeň rozpouštění ve vodě a stupeň bobtnání vzhledem ke stupni zesíťování. Byl také zjišťován rozdíl v charakteristikách filmů a nanovláknenných membrán.

7.1 Tepelná odolnost a morfologie hydrogelových membrán po styku s vodou

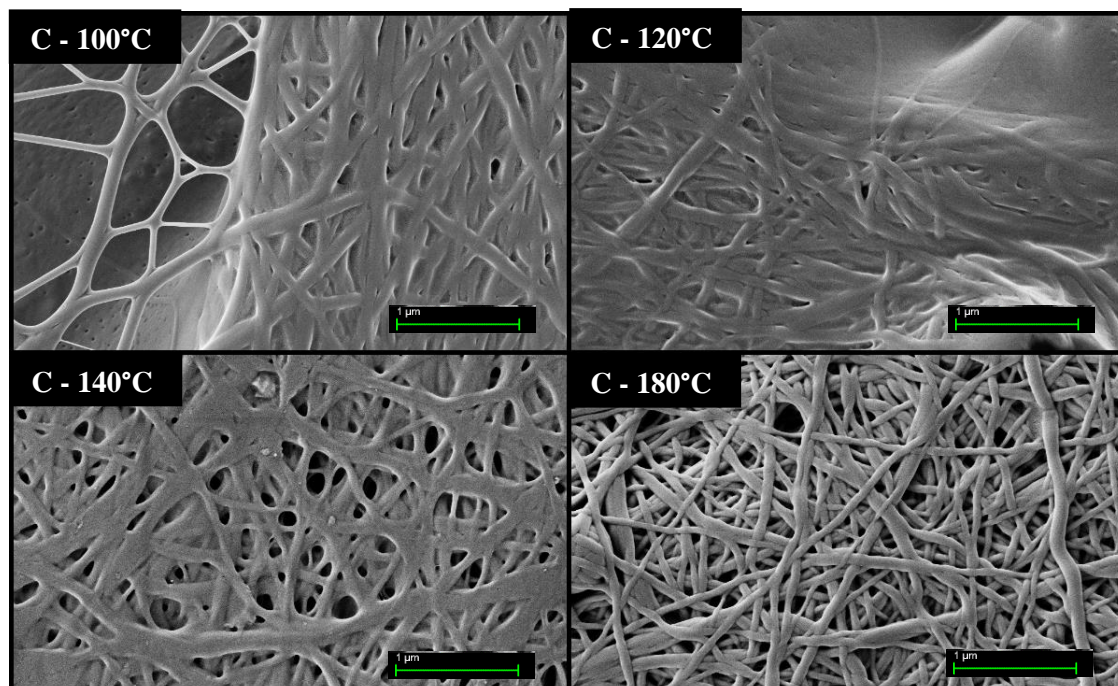
Tepelná odolnost nanovláknenných membrán vystavených teplotám 100°C až 180°C byla zkoumána pomocí SEM analýzy. Bylo zjištěno, že rozdíly v zesíťování hydrogelů po dobu 30 nebo 60 min nejsou nijak patrné, proto byly membrány dále zkoumány při různých teplotách zesíťování, ale pouze v časovém rozmezí 60 min. Jak snímky ukazují (obr. 22), při všech testovaných teplotách byla zachována nanovláknenná struktura. Avšak při teplotách 100°C a 120°C se vlákna tavila a struktura se zdá více uzavřená. Zatímco při teplotách 140°C a 180°C lze pozorovat jednotlivá vlákna a struktura působí otevřenějším dojmem.

Morfologie membrán po styku s vodou byla prověřována pomocí kapkové metody (viz kap. 6.3). Bylo zjištěno, že s vyšší teplotou zesíťování byly vrstvy ve vodě více nerozpustné. Nanovláknenné vrstvy zesíťované na teplotu 100°C se po působení vody okamžitě rozpustily, proto byla tato teplota shledána jako nedostačující a v práci byly dále zkoumány pouze teploty 120°C, 140°C a 180°C.

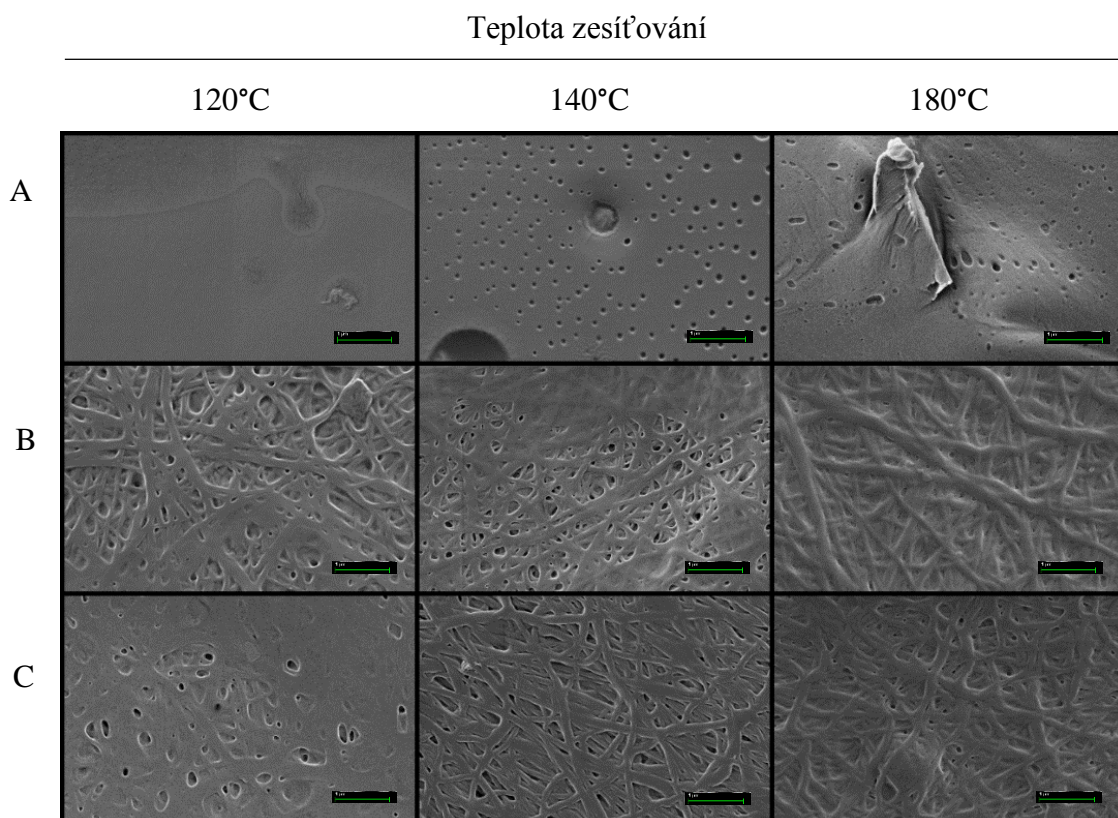
Diskuze výsledků

Jak je patrné z SEM snímků, s vyšší teplotou síťování se nanovláknna po kontaktu s vodou stávaly méně nabobtnalými. Při nejnižších teplotách je zřetelné, že nanovláknna neudržela svou morfologii a po styku s vodou se slila do filmů (tento jev zachycuje obr. 23). Dalším zajímavým poznatkem je ovlivnění nanovláknenné struktury poměrem PVP/chitosan. Na základě SEM analýzy bylo prokázáno, že s rostoucím podílem chitosanu ve směsi, byly nanovláknenné membrány více odolné vodě a méně bobtnaly. Pokud se zaměříme na snímky vrstev A, vidíme, že při všech teplotách zesíťování, vymizela vláknenná struktura a vlákna se při kontaktu s vodou slila do filmů. Naproti tomu vrstvy vyrobené ze směsi B vykazují vyšší stabilitu po účinku vody. Snímky ukazují, že s vyšší teplotou zesíťování a po kontaktu s vodou mají vrstvy ze směsi B, nižší tendenci tvořit filmy a více vyniká vláknenná struktura. Toto tvrzení platí i pro vrstvy vyrobené ze směsi C.

Tyto vrstvy také vykazují vyšší stabilitu po působení vody a i zde je viditelná nanovláknenná struktura.



Obr. 22 – Vliv teploty zesíťování na morfologii nanovláknenné membrány



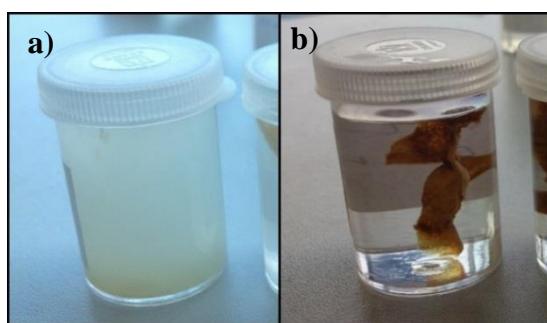
Obr. 23. – Vliv působení vody na morfologii nanovláknenných membrán

7. 2 Stupeň rozpouštění

Stupeň rozpouštění byl zkoumán vložím nanovlákných filmů do vody po dobu 24 hodin a následným zjišťováním váhových úbytků podle rovnice 3, uvedené v kap. 1. 3. 1, kdy výsledkem je procentuální podíl hydrogelu ve filmech.

Diskuze výsledků

Z tohoto měření vyplynulo, že s rostoucí teplotou zesítování byly filmy více nerozpustné, to znamená, že po kontaktu filmů s vodou bylo dosaženo vyššího podílu hydrogelu (viz graf 2). Tento jev byl patrný již při samém počátku měření, kdy testovací voda filmů zesítovaných na teplotu 120°C byla již po 10-ti minutách zakalená a filmy vykazovaly známky rozpouštění, zatímco testovací voda filmů, které byly zesítované na vyšší teploty, byla nezakalená (viz obr. 24). Průměrný podíl gelu ve filmech, které byly zesítované na teplotu 120°C dosahoval přibližně 9%, na teplotu 140°C v průměru 38%, zatímco na teplotu 180°C tato hodnota v průměru činila 85% (tab. 11). Také bylo zjištěno, že stupeň rozpouštění je ovlivněn poměrem PVP/chitosan. Směsi, které obsahovaly více chitosanu, vykazovaly vyšší stupeň nerozpustnosti. Dá se říci, že z hlediska nerozpustnosti filmů se jako nejvhodnější jevil vzorek C (z daných směsí má nejvyšší podíl chitosanu ve směsi), zesítovaný na 180°C, který se rozpustil nejméně a dosáhl hodnoty 87%.



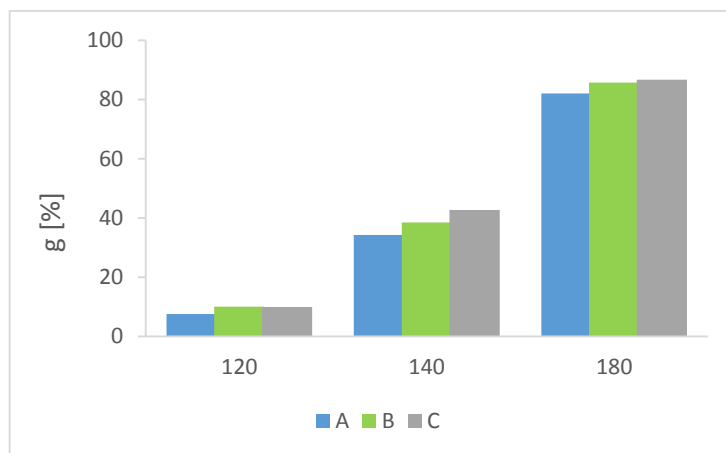
Obr. 24 – Roztoky během zkoušky rozpustnosti PVP/chitosanových filmů:

a) Zakalená testovací voda filmu zesítovaného na 120°C

b) Čirá testovací voda filmu zesítovaného na 180°C

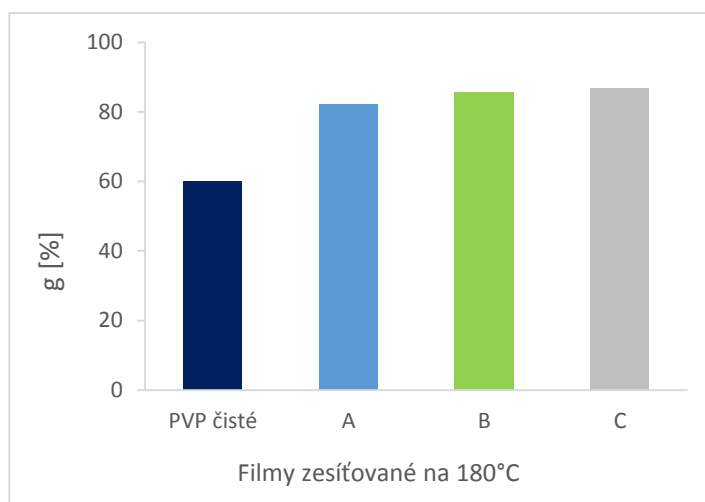
| Podíl hydrogelu ve filmech po působení vody [%] | | | | | |
|---|-------|----|----|----|-----|
| Typ směsi | | A | B | C | PVP |
| Teplota zesítování | 120°C | 8 | 10 | 10 | - |
| | 140°C | 34 | 38 | 43 | - |
| | 180°C | 82 | 86 | 87 | 60 |

Tab. 11 – Podíl hydrogelu ve filmech po působení vody



Graf 2 – Vliv teploty zesíťování a typu směsi PVP/chitosan na rozpustnost filmů ve vodě

Během testování stupně rozpouštění se filmy z čistého PVP zesíťované na teploty 120 a 140°C úplně rozpustily. Z toho důvodu v grafu 3 vidíme porovnání PVP a PVP/chitosan filmů zesíťovaných pouze na 180°C. S rostoucím množstvím PVP ve směsi, byly filmy ve vodě více rozpustné, a proto filmy vyrobené z čistého PVP mají ze zkoumaných materiálů nejvyšší rozpustnost. Po působení vody po dobu 24 hodin zbylo z čistého PVP filmu pouze 60% z původního vzorku, zatímco z filmu vyrobeného ze směsi A dosahovala tato hodnota 82%, ze směsi B pak 86% a z filmu ze směsi C zbylo po 24 hodinovém působení vody až 87% nerozpuštěného hydrogelu.



Graf 3 – Vliv typu směsi PVP/chitosan na rozpouštění filmů ve vodě

7. 3 Stupeň bobtnání

Stupeň bobtnání byl zkoumán vložení nanovlákných hydrogelových membrán nebo filmů do vody po dobu 30 minut a následným zjišťováním váhových přírůstků. Bobtnání bylo vypočteno podle rovnice 4, uvedené v kap. 1. 3. 2.

Diskuze výsledků

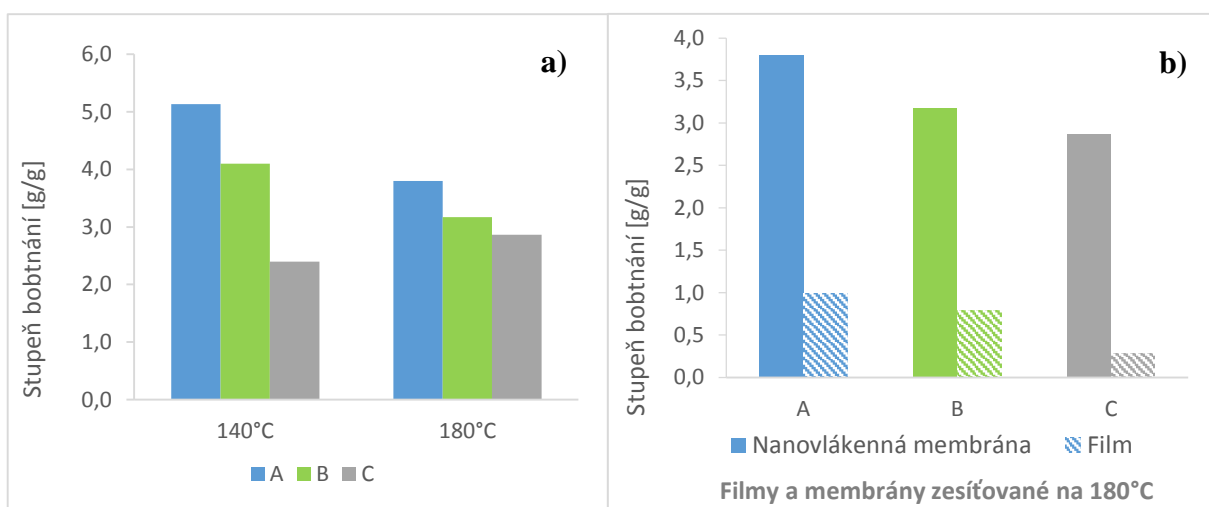
Z grafu 4 a) a b) vyplývají tři závislosti bobtnavosti, kterou lze řízeně ovlivňovat, a to pomocí objemového podílu PVP/chitosan, teploty zesíťování a výsledné podoby hydrogelu. Co se týče závislosti procenta bobtnavosti s rostoucí teplotou zesíťování, dá se předpokládat, že s vyšší teplotou zesíťování je struktura hydrogelu více uzavřená a více reaktivních skupin jednotlivých polymerních řetězců je spolu propojených. V praxi to znamená méně míst, kde by se voda mohla navázat na hydrofilní skupiny. Tato závislost byla u hydrogelových nanovlákných membrán PVP/chitosan potvrzena. Jak graf 4 a tab. 12 naznačují, tak bobtnavost u membrán A zesíťovaných při 180°C, klesla přibližně z 5,1 na 3,8 g/g při teplotě zesíťování 140°C. Podobný výsledek byl pozorován i u bobtnavosti membrány B zesíťované na 180°C, kde bobtnavost dosahovala přibližně 4,1 g/g, zatímco bobtnavost stejné membrány zesíťované na 140°C byla pouhých 3,2 g/g. Také u membrány C bobtnavost s vyšší teplotou zesíťování klesla a to z původních 2,9 g/g při teplotě zesíťování 140°C na 2,4 g/g při teplotě zesíťování 180°C.

Dalším zajímavým poznatkem je, že nanovlákné membrány vyrobené ze směsi A bobtnají ze všech uvedených směsí nejvíce. Je důležité připomenout, že směs A značí směs PVP/chitosan v objemovém poměru 9/1, což znamená, že ze všech použitých směsí právě směs A obsahuje největší podíl PVP. Proto se dá předpokládat, že stupeň bobtnání je ovlivněn nejen teplotou zesíťování, ale také množstvím PVP ve směsi. V tomto případě lze konstatovat, že bobtnavost nanovlákné membrány PVP/chitosan v objemovém poměru 9/1 dosahovala okolo 3,8 g/g naproti tomu bobtnavost nanovlákné membrány ze směsi B dosahovala hodnoty 3,2 g/g a membrána ze směsi B pouze 2,4 g/g. Toto chování je v souladu s chemickou podstatou PVP, který je právem v literatuře označován jako hydrogel. Naproti tomu chitosan svou chemickou podstatou hydrogelem není.

Byl také zjišťován rozdíl v bobtnání nanovlákných membrán a filmů. Výsledkem bylo, že filmy bobtnají v průměru o 80% méně než nanovlákné membrány (viz graf 4 b). Důvodem menší bobtnavosti filmů, je s největší pravděpodobností o mnoho menší měrný povrch filmů v porovnání s nanovláknou membránou.

| Stupeň bobtnání nanovláknenných membrán a filmů [g/g] | | | | | | | | |
|---|-------|----------------------|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| Typ testovaného mat | | Nanovláknenná vrstva | | | Film | | | |
| Typ směsi | | A | B | C | A | B | C | PVP |
| Stupeň zesít'ování | 140°C | 5,1 | 4,1 | 2,9 | - | - | - | - |
| | 180°C | 3,8 | 3,2 | 2,4 | 0,9 | 0,7 | 0,6 | 1,1 |

Tab. 12 – Stupeň bobtnání nanovláknenných membrán a filmů

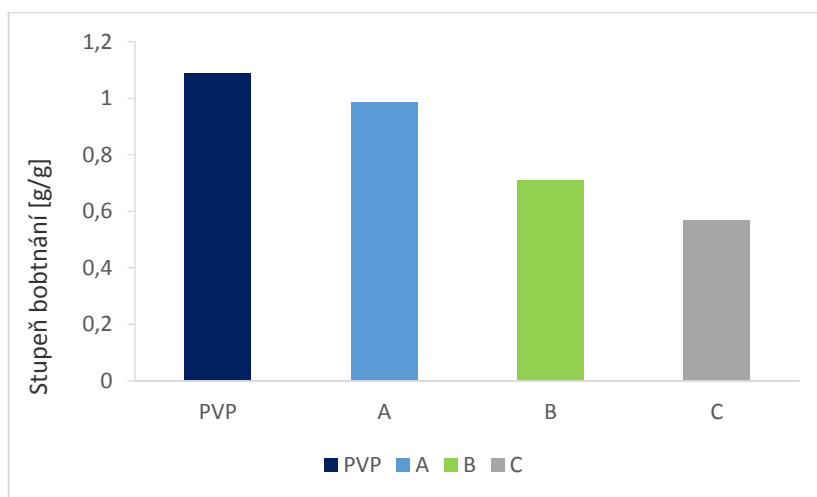


Graf 4 – Vliv teploty zesíťování a typu směsi PVP/chitosan na bobtnavost filmů a nanovláknenných vrstev:

a) Hydrogelové membrány A, B, C

b) Hydrogelové membrány vs. filmy

Graf 5, zaměřující se na stupeň bobtnání filmů, poukazuje na to, že se zvyšujícím se podílem PVP ve směsi dosahují membrány vyššího stupně bobtnání. I tato skutečnost potvrzuje již dříve zmíněnou teorii a to, že PVP ve směsi hraje roli polymeru, který má schopnost poutat a udržet vodu. Z toho důvodu má PVP ze všech testovaných směsí nejvyšší stupeň bobtnání a to 1,1g/g a naopak nejmenší stupeň bobtnání 0,6g/g má nanovlákněná membrána vyrobená ze směsi C, která obsahuje nejmenší podíl PVP.



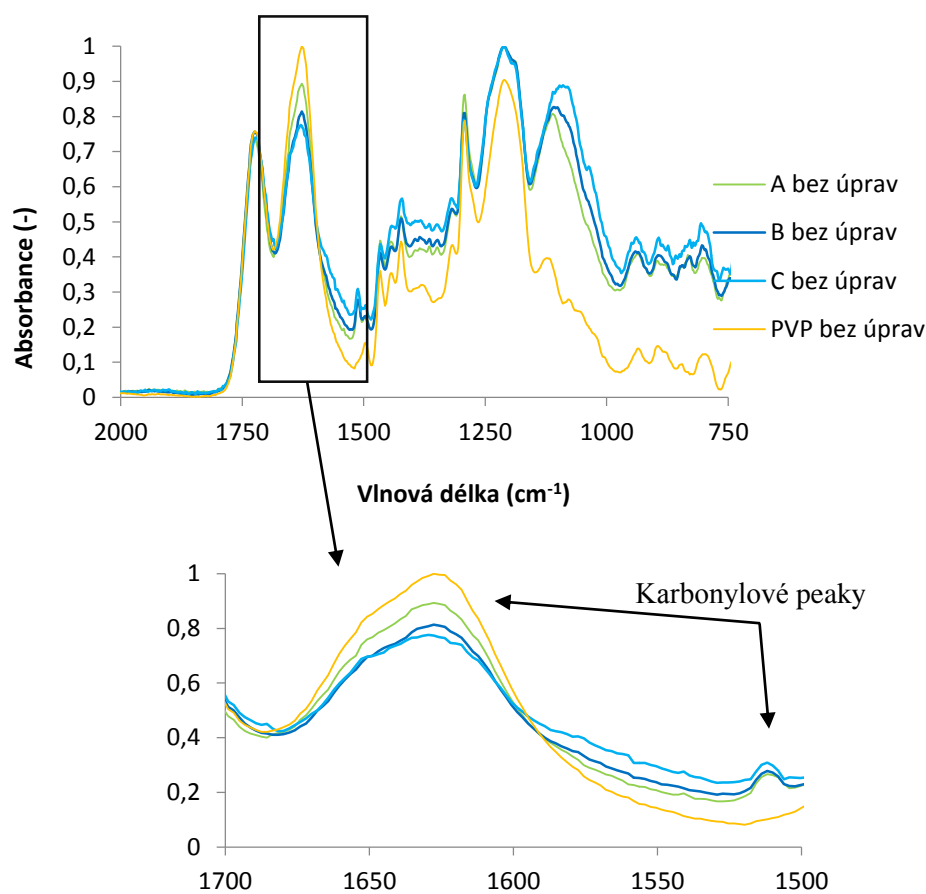
Graf 5 – Vliv typu směsi PVP/chitosan na stupeň bobtnání hydrogelu

7. 4 FTIR analýza hydrogelových membrán

Chemická podstata nanovláknenných membrán byla zkoumána pomocí FTIR analýzy. Pro pochopení základního principu zesíťování směsi PVP/chitosan, byly analyzovány nanovláknenné membrány s rostoucí teplotou síťování, dále byly analyzovány nanovláknenné membrány zesíťované a po rozpouštění v destilované vodě pro určení, která ze složek se při rozpouštění vymývá. Závěrem byly hledány rozdíly mezi nanovláknennými membránami s rozdílným objemovým podílem chitosanu a PVP. Jelikož pro rozpouštění polymerů byla použita kyselina citrónová, i z toho pohledu byla FTIR analýza žádoucí.

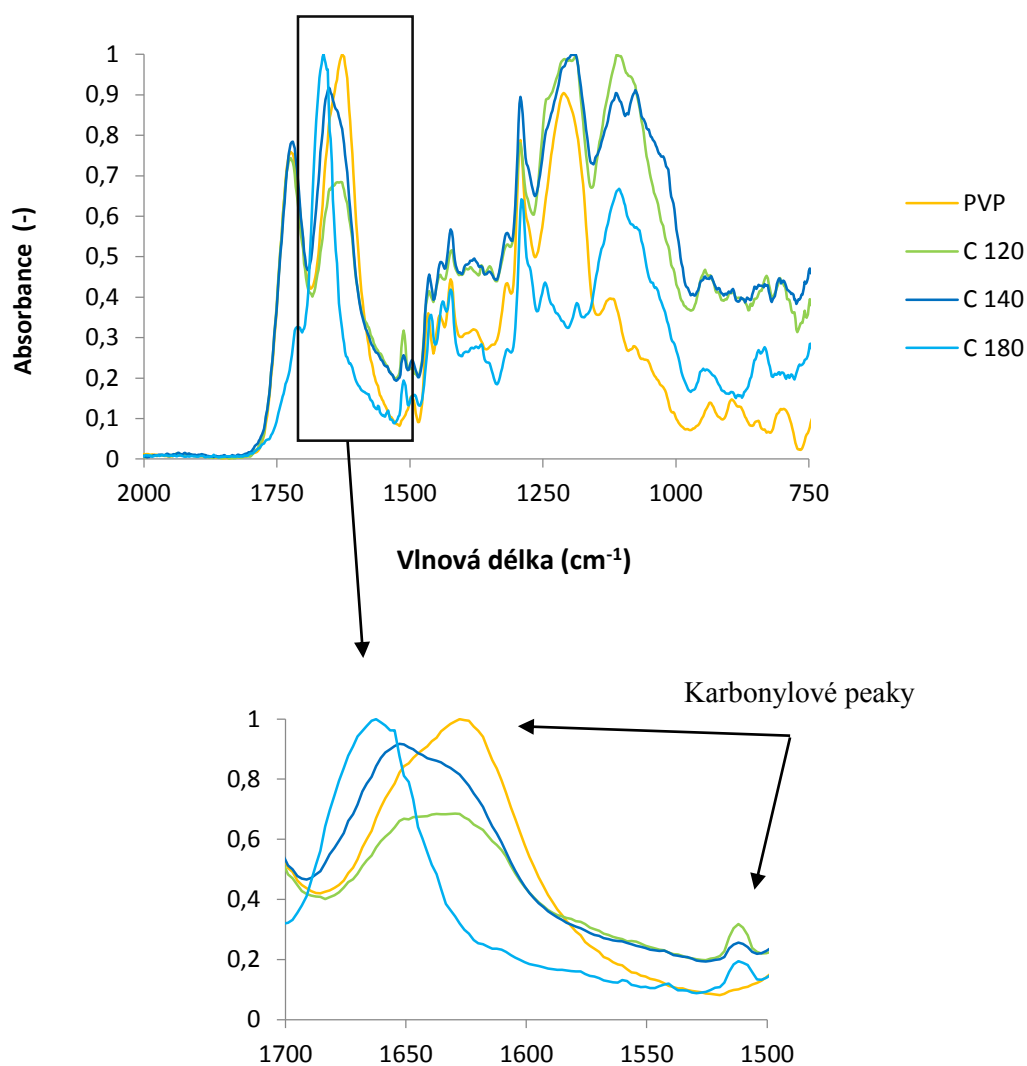
Diskuze výsledků

Graf 6 je zaměřen na membrány, které byly vyrobené z různých směsí PVP/chitosan, které nebyli zesíťované či jinak upravované. Z grafu 6 lze vyčíst, že čisté PVP má pouze jeden karbonyl, zatímco u směsí PVP/chitosan lze pozorovat dva karbonylové vrcholy. To potvrzuje domněnku, že PVP a chitosan spolu reagují, vznikají vodíkové můstky a dochází k intermolekulárním vazbám. Dá se říci, že polymery spolu síťují.



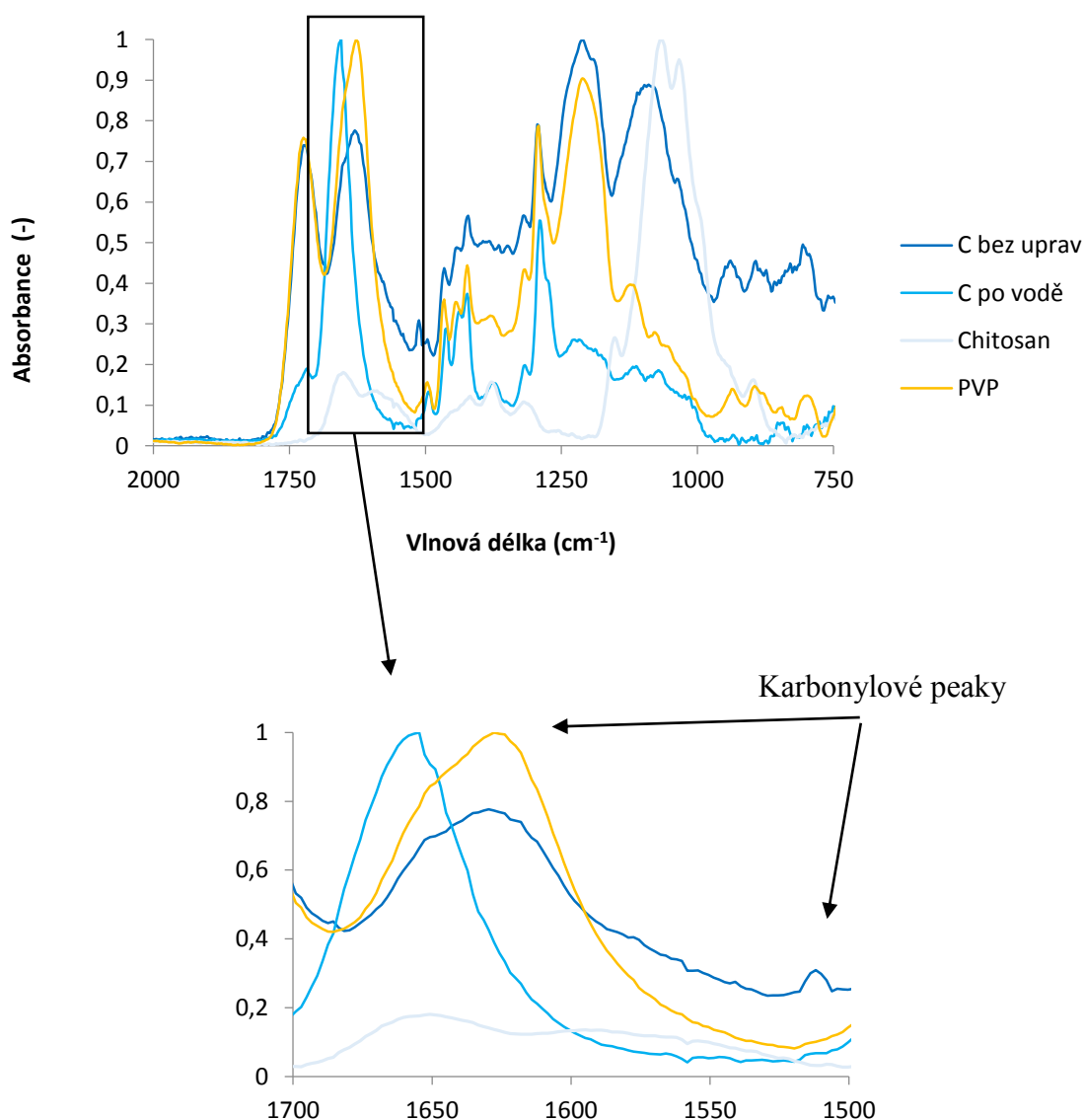
Graf 6 - FTIR analýza membrán bez úprav

Graf 7 zachycuje analýzu nanovláknenné membrány ze směsi C při různých teplotách zesíťování, kde lze pozorovat přelívání karbonylových peaků při různých teplotách zesíťování a také že od teploty 140°C se začíná měnit poměr intenzit karbonylů. Při teplotě zesíťování 180°C je poměr intenzity peaku mnohem znatelnější a spektrum se charakterově blíží FTIR spektru PVP.



Graf 7 – FTIR analýza nanovláknenných membrán typu C zesíťovaných na různé teploty

Z analýzy, která zkoumala nanovláknennou membránu ze směsi C po působení vody (graf 8), vyplynulo, že se spektra blíží svým tvarem po působení vody spektru PVP a že pravděpodobně dochází k postupnému rozpouštění chitosanu ze směsi PVP/chitosan (viz přelévání karbonylových peaků). Možným vysvětlením může být, že vlivem vody se vymývá zbytková kyselina citrónová přítomná v nanovláknenné membráně po elektrostatickém zvlákňování a tím mění pH vody. Jelikož je chitosan rozpustný v kyselém prostředí, může docházet k jeho rozpouštění vlivem okyselení pH vody, ve které byly nanovláknenné vrstvy rozpouštěny, která se více uvolňuje a následně rozpouští chitosan.



Graf 8 – FTIR analýza hydrogelové membrány bez úprav a po působení vody

Závěr

Cílem této diplomové práce bylo vyrobit ve vodě nerozpustnou hydrogelovou nanovláknennou membránu, která dokáže pojmout a zadržet velké množství vody. Z tohoto důvodu bylo potřebné nalézt optimální zvlákňovací podmínky pro elektrostatické zvlákňování a vyrobenou hydrogelovou membránu otestovat pomocí SEM a FTIR analýzy a dále ověřit vlastnosti vyrobené hydrogelové nanovláknenné membrány, a to především její rozpustnost ve vodě a stupeň jejího bobtnání.

Elektrostatickým zvlákňováním byly zhotoveny nanovláknenné membrány v objemových poměrech PVP/chitosan 9/1, 7/3 a 6/4. Tyto vrstvy byly zesíťovány při teplotách 100, 120, 140 a 180°C. Zda bylo zesíťování opravdu účinné, bylo potřebné dále testovat pomocí několika analýz. Kapkovou metodou bylo zjištěno, že zesíťované membrány jsou při krátkodobém kontaktu s vodou nerozpustné. Proto bylo zkoumáno, jak se chovají ponořením vzorků do vody na delší dobu. Ty, které byly zesíťované na teploty 100°C a 120°C, byly ve většině případů po 24 hodinách ve vodě zcela rozpuštěné. I ze SEM snímků bylo patrné, že membrány zesíťované na 100 a 120°C se slily do filmů a zcela z nich vymizela nanovláknenná struktura. Zatímco membrány zesíťované na teploty 140 a 180°C vykazovaly vyšší stupeň nerozpustnosti a také u nich bylo prokázáno, že bobtnají. Z testování též vyplynulo, že s vyšším podílem PVP ve směsi PVP/chitosan, jsou membrány více rozpustné a více bobtnají. Na závěr se pomocí FTIR metody ukázalo, že polymery PVP a chitosan spolu reagují a že se tvoří nové vazby. Proto se dá říci, že zesíťování bylo účinné.

Z testování membrán vyrobených z čistého PVP a ze směsi PVP/chitosan pomocí SEM analýzy se dalo usoudit, že nanovláknenná struktura membrán vyrobených z čistého PVP se jevila jako více uzavřená a vlákna se i bez jakýkoliv úprav zdála nabobtnalá. Důvodem nabobtnání nezesíťovaných PVP nanovláken byla zřejmě jejich schopnost nabírat okolní vzdušnou vlhkost. Během měření stupně rozpouštění se dospělo k výsledku, že PVP membrány jsou méně odolné vůči působení vody. Rozdíl v rozpustnosti PVP a PVP/chitosanových membrán byl více než 20%. Naopak v testu bobtnavosti membrány vyrobené z čistého PVP bobtnaly více než membrány vyrobené ze směsi PVP/chitosan, ale zde výsledný rozdíl nebyl tak markantní jako u testu rozpustnosti.

Pomocí FTIR analýzy se došlo k závěru, že vlastnosti hydrogelových membrán ovlivňuje kyselina citrónová, která v experimentu byla použita jako rozpouštědlo. Pokud membrána přišla do kontaktu s vodou, vlivem vody se z ní vymývalo zbytkové množství kyseliny citrónové a ta následně rozpouštěla chitosan. Pro další experimenty v této oblasti by bylo zajímavé zjistit, jak by se změnila hydrogelová membrána a její vlastnosti, kdyby se použily různé koncentrace kyseliny citrónové a polymerní směs zůstala neměnná. Toto však překračuje rámec této diplomové práce a slouží spíše jako návrh pro další experiment.

Výroba hydrogelových nanovláknenných membrán by v budoucnu mohla nahradit stávající produkty používané ve zdravotnictví. Možné použití membrán zkoumaných v této diplomové práci, by mohlo směřovat do náplastí pro hojení ran, scaffoldů nebo systému řízeného dávkování léčiv.

Použitá literatura

- [1] I. Gibas et al. Chemistry & Chemical technology: Review: **Synthetic Polymer Hydrogels for Biomedical Applications**. Gdansk, 2010, pages: 297-299.
- [2] S. Al-Assaf, P. Syed and K. H. Gulrez, **Hydrogels: Methods of Preparation, Characterisation and Applications**. Progress in Molecular and Environmental Bioengineering - From Analysis and Modeling to Technology Applications. Prof. Angelo Carpi. United Kingdom: InTech, 2011, pages: 117 - 150.
- [3] D. Lukáš a kol. **Zdravotnické textilie**. Praha : Vydala Asociace inovačního podnikání, 2008. II. díl.
- [4] S. Swapp. Geochemical Instrumentation and Analysis. **Scanning Electron Microscopy (SEM)**. [online]. November 19, 2013 [cit. 2014-05-09]. Available from: http://serc.carleton.edu/research_education/geochemsheets/techniques/SEM.html.
- [5] K. Šafařová. **Skenovací (rastrovací) elektronová mikroskopie** [pdf]. Olomouc: Centrum pro výzkum nanomateriálů.
- [6] T. Lin. Industrial Production Technology for Nanofibers. **Nanofibers – production, properties an functional application**. Rijeka: InTech, 2011.
- [7] L. Sodomka. **Jednoduché teoretické úvahy ke zvlákňování nanovláken**. Rožnov pod Radhoštěm: Nanocon, 2009.
- [8] Protext. **Český přístroj urychlí výzkum aplikací nanovláken v medicíně** [online]. 11. 1.2011, [cit. 2014-05-09]. Dostupné z: <http://www.protext.cz/english/zprava.php?id=16548>
- [9] E. Košťáková. Katedra netkaných technologií, Technická univerzita v Liberci. Liberec. **Úvod do elektrostatického zvlákňování**. Přednáška. Dostupné online: http://www.ft.tul.cz/depart/knt/nanotex/5.%20prednaska%20TNA_kombinovane%20stu

dium%20LS%20%C5%A1k.rok%202009-

10_Eva%20Kostakova,%20KNT,%20FT,%20TUL.pdf.

[10] A. Rothschild. **Research gallery** In: Department of materials engineering: Electroceramic material and devices. [online]. [cit. 2014-05-09]. Dostupné z: http://matwww.technion.ac.il/Rothschild/Research_Gallery.html

[11] Elmarco. *Technologie NanospiderTM*. [Online] 2004-2013. [Citace: 26. 11 2013.] <http://www.elmarco.cz/technologie/technologie/>.

[12] Katedra netkaných technologií. *Nanospider technology* [online]. 2014 [cit. 2014-05-09]. Dostupné z:http://www.ft.tul.cz/depart/knt/web/index.php?option=com_content&task=view&id=44&Itemid=44

[13] F. Yener and O. Jirsák. Nonwoven Department, Faculty of Textile Engineering, Technical University of Liberec. 2011. *Improving performance of polyvinylbutyral electrospinning*. [online]. [cit. 2014-05-09]. Dostupné z:http://www.nanocon.eu/files/proceedings/nanocon_11/lists/papers/1337.pdf

[14] F. Gökmeşe et al. (2013): Polymer-Plastics Technology and Engineering, *Preparation and Characterization of PVA/PVP Nanofibers as Promising Materials for Wound Dressing*, Vol. 52, pages: 1259-1265

[15] R. Fogaça and L. H. Catalani (2013): **PVP Hydrogel Membranes Produced by Electrospinning for Protein Release Devices**, *Soft Materials*, Vol. 11, pages 61–68.

[16] I. Uslu, A. Aytimur (2013): *Fabrication and Characterization of PVA/PAA/PEG/PVP Nanofibers with Aloe Vera and HPMC as Promising Material for Wound Dressing*. Faculty of Education, Gazi University

[17] A. Çay, a M. Miraftab (2013): *Properties of Electrospun Poly(vinyl alcohol) Hydrogel Nanofibers Crosslinked with 1,2,3,4-Butanetetracarboxylic Acid*. *Journal of applied polymer science*, vol. 129, pages: 3140-3149.

- [18] Hartmann - Rico a.s. HydroTac: ***Polyuretanové krytí s hydrogelem***. In: [online]. [cit. 2014-05-09]. Dostupné z: <http://cz.hartmann.info/114590.php>
- [19] M. Rabišková, V. Fričová. Praktické lékařství 2008. **Perorální formy s řízeným uvolňováním léčiv** [online]. 2008, s. 186-189 [cit. 2014-05-09]. Dostupné z: <http://solen.cz/pdfs/lek/2008/04/09.pdf>
- [20] M. Krajíček. **Terapeutické systémy - řízené uvolňování léčiv z lékových forem (Drug Delivery Systems)**. favea. [Online] 28. 5 2009. [Citace: 2. leden 2014.] <http://www.favea.cz/aktuality/terapeuticke-systemy-rizene-uvolnovani-leciv-z-lekovych-forem-drug-delivery-systems>.
- [21] Ch. Lau and Y. Mi (2002): **A study of blending and complexation of poly(acrylic acid)/poly(vinyl pyrrolidone)**, Polymer, Vol. 43, No. 3, pages: 823–829.
- [22] S. A. Jones, G. P. Martin, P. G. Royall and M. B. Brown (2005): **Biocompatible Polymer Blends: Effects of Physical Processing on the Molecular Interaction of Poly(vinyl alcohol) and Poly(vinyl pyrrolidone)**. Journal of Applied Polymer Science. Vol: 98, pages: 2290-2299.
- [23] H. Kaczmarek, A. Szalla, A. Kamińska (2001): **Study of poly (acrylic acid) - poly(vinylpyrrolidone) complexes and their photostability**. Polymer 42, pages: 6057-6069.
- [24] A. Thakur, Mehak and R.K. Wanchoo (2012): **Preparation and Characterization of pH-Sensitive Semi-Interpenetrating Polymer Networks of Chitosan and Polyvinylpyrrolidone**. Environment and Biological Sciences. Pages: 14-17.
- [25] Toxipedia: **Polyacrylic acid**. [Online] 28. June 2010. [Citace: 2. 2 2014.] <http://www.toxipedia.org/display/toxipedia/Polyacrylic+Acid>.
- [26] Sigma-Aldrich. **TRITON X-100™**. www.sigmaaldrich.com. [Online] [Citace: 21. 2 2014.] http://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma-Aldrich/Product_Information_Sheet/x100pis.pdf.

[27] MP Biomedicals: **Triton molecular structure**. MP bio. [Online]. [Citace: 1. 3 2014.] <http://www.mpbio.com/images/product-images/molecular-structure/02194854.png>.

[28] Ministerstvo životního prostředí České republiky. **Chloridy**. Integrovaný registr znečišťování. [Online] [Citace: 21. 2 2014.] <http://www.irz.cz/repository/latky/chloridy.pdf>.

[29] Wikipedia: **Citric acid**. *Wikipedia.org*. [Online] http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/c/c5/Zitronens%C3%A4ure_-_Citric_acid.svg/250px-Zitronens%C3%A4ure_-_Citric_acid.svg.png.

[30] G. Long and col. **N,N-dimethylformamide**. collective,; World Health Organization, Canada, 2001, Concise International Chemical Assessment Document 31. ISSN 1020-616.

[31] Wikipedia. **Dimethyl sulfoxide**. *www.wikipedia.org*. [Online] [Citace: 3. 3 2014.] http://en.wikipedia.org/wiki/Dimethyl_sulfoxide.

[32] P. Dutia. **Ethyl Acetate: A Techno-Commercial Profile**. Chemical weekly. [Online] 10. August 2004. http://www.chemicalweekly.com/Profiles/Ethyl_Acetate.pdf#page=6.

[33] Drobky světa. **Ethanol**. [Online] 12. 9 2006. [Citace: 3. 3 2014.] <http://www.drobkysveta.estranky.cz/clanky/chemie/ethanol.html>.

[34] Conjecture Corporation. **What is Tetrahydrofuran?** *Wise geek*. [Online] [Citace: 3. 3 2014.] <http://www.wisegeek.com/what-is-tetrahydrofuran.htm>.

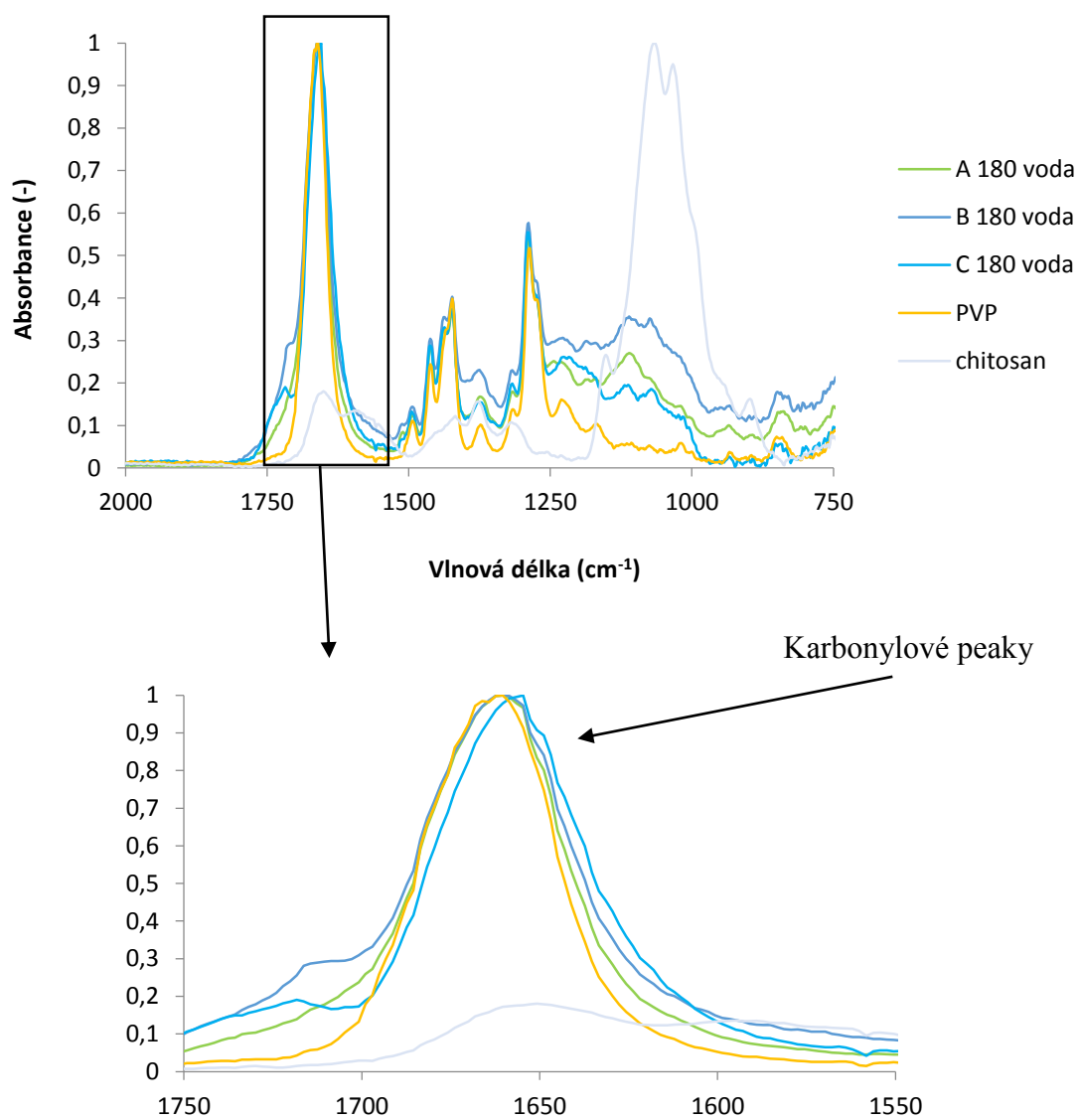
[35] Moje chemie. **Isoprenoidy** [online]. 2. 11. 2011 [cit. 2014-05-10]. Dostupné z:<http://www.mojechemie.cz/Biochemie:Isoprenoidy>

[36] Hunan Xisngwei Co, Ltd. **Methyl acetate**. [online]. [cit. 2014-05-10]. Dostupné z:http://www.hhxw.chemchina.com/hnxwen/cpyfw/ppysb/tztl/B31030204web_1.htm

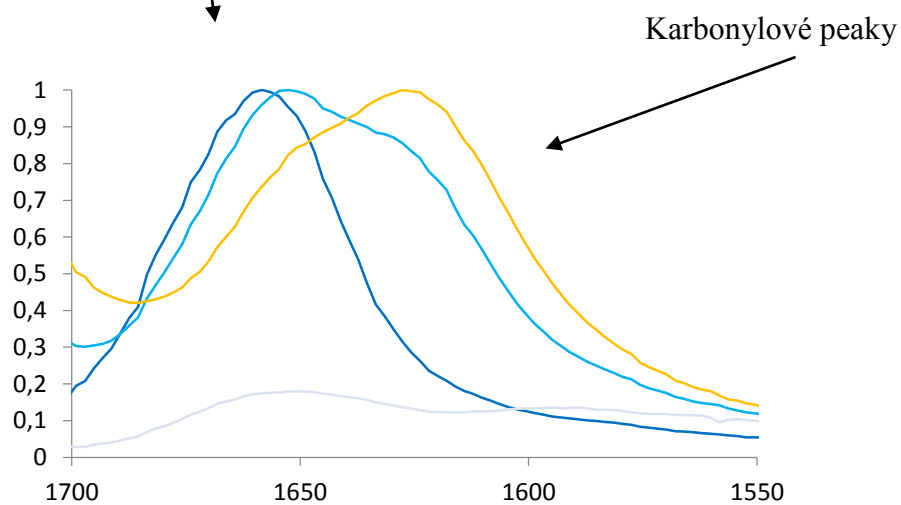
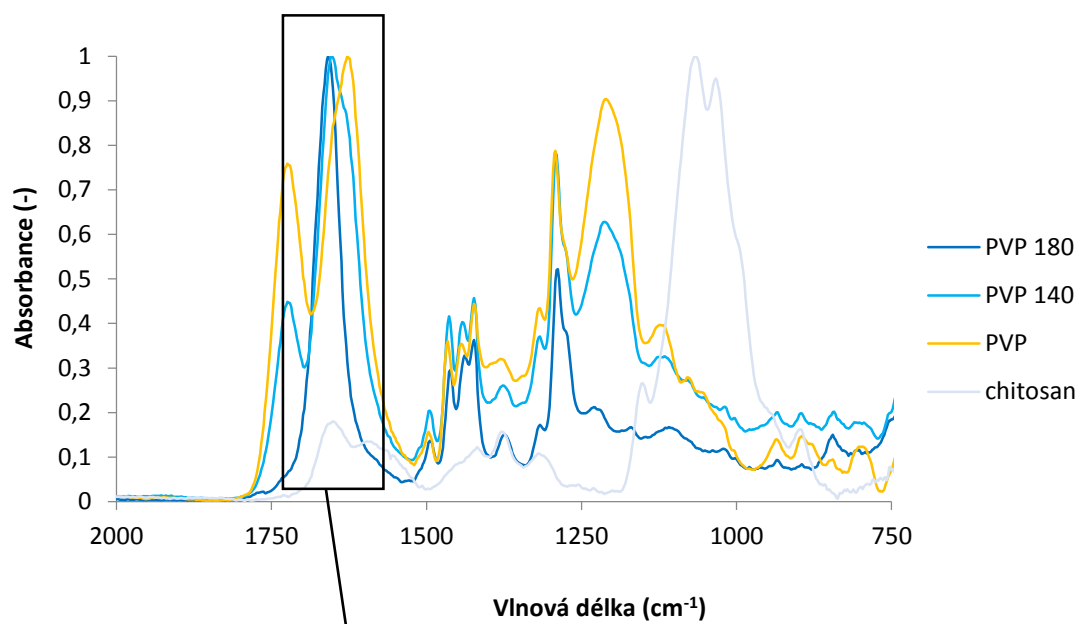
Seznam příloh

- I. Výsledky FTIR analýzy
- II. Fotky PVP/chitosan filmů
- III. Průměry vláken

- FTIR analýza A, B, C membrán po působení vody



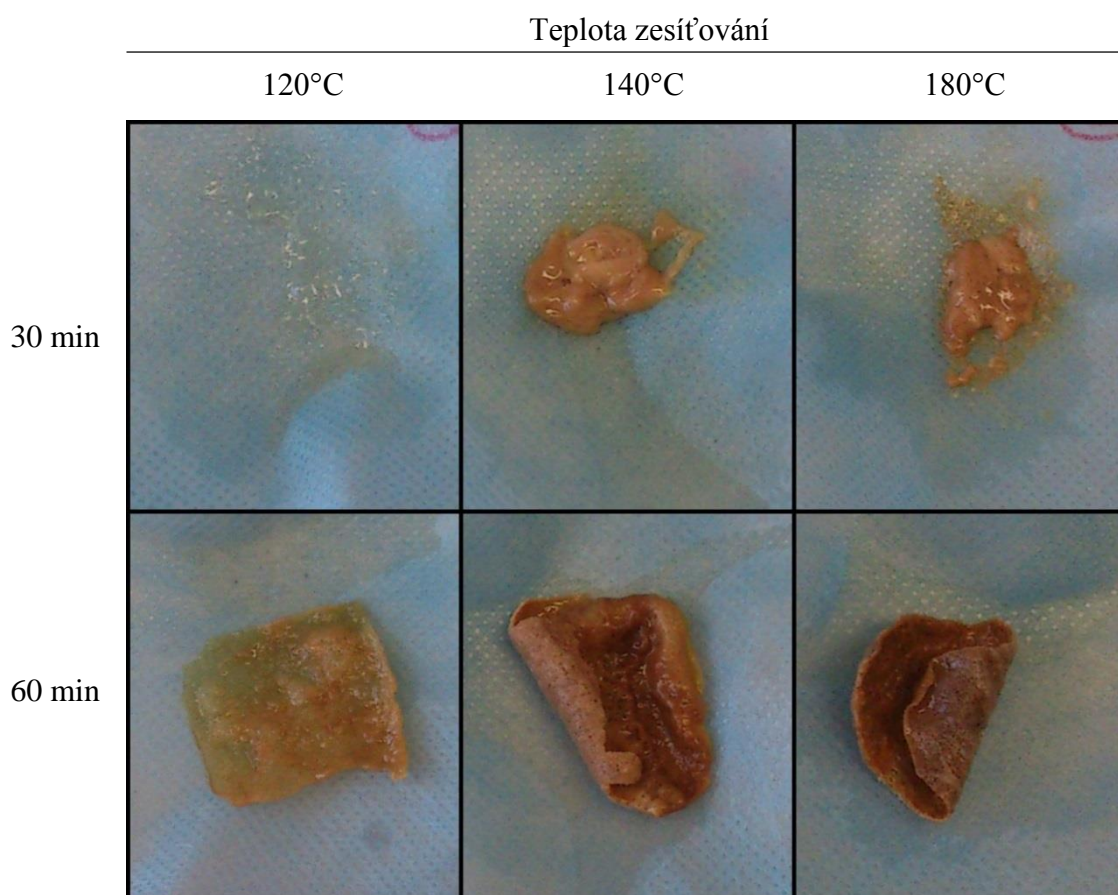
- FTIR analýza PVP membrán



- Foto PVP filmů zesíťovaných na různé teploty



- Foto filmů, na které bylo působeno vodou po dobu 24 hodin



- **Průměry vláken**

| Zvlákňování z tyčky | | | |
|--|--|--|--|
| | PVP 1 300 000 + 5% chitosan (7/3) | PVP 360 000 + 5% chitosan (7/3) | PVP 360 000 + 5% chitosan (7/3) Po zesíťování na 140°C na 60 minut |
| 1. Měření [μm] | 106 | 113 | 239 |
| 2. Měření [μm] | 105 | 110 | 342 |
| 3. Měření [μm] | 88 | 140 | 202 |
| 4. Měření [μm] | 90 | 122 | 176 |
| 5. Měření [μm] | 99 | 82 | 139 |
| 6. Měření [μm] | 79 | 114 | 215 |
| 7. Měření [μm] | 89 | 96 | 255 |
| 8. Měření [μm] | 95 | 117 | 226 |
| 9. Měření [μm] | 89 | 121 | 196 |
| 10. Měření [μm] | 124 | 89 | 298 |
| Průměr [μm] | 96,40 | 110,33 | 228,79 |
| Směrodatná odchylka [μm] | 12,74 | 17,19 | 58,91 |
| Variační koeficient [%] | 13,21 | 15,57 | 25,75 |
| 95% interval spolehlivosti [μm] | <88,50; 104,30> | <99,75; 121,05> | <192,28; 265,32> |